

Contribution à l'étude
du
Facteur intrinsèque
dans le suc gastrique humain
(Dosage, Nature, Physiologie, Pathologie)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 4 octobre 1961

POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

PIERRE NABET

né le 3 avril 1936 à Oujda (Maroc)

Assistant à la Faculté de Médecine
Lauréat de la Faculté

Examineurs de la thèse	{	MM. WOLFF, <i>Professeur</i> , Président.	{	Juges
		BODART, <i>Professeur</i> ,		
		RAUBER, <i>Professeur sans chaire</i> ,		
		LARCAN, <i>Agrégé</i> ,		

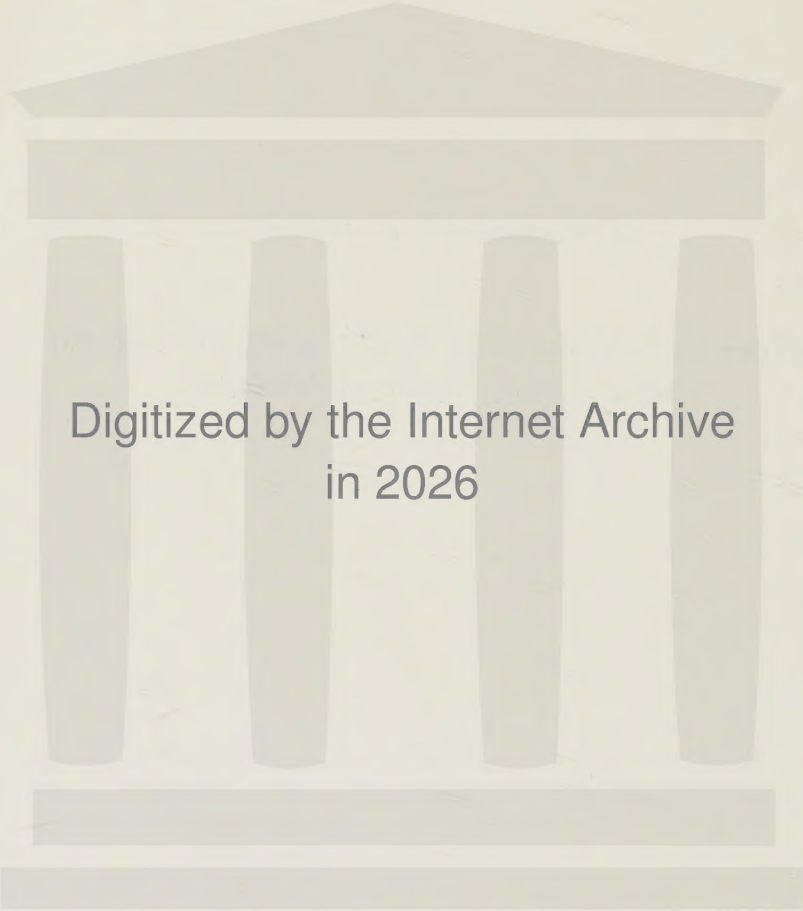
NANCY
IMPRIMERIE GEORGES THOMAS
Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage
1962

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

Facteur intrinsèque dans le suc gastrique humain

(Dosage, Nature, Physiologie, Pathologie)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Contribution à l'étude
du
Facteur intrinsèque
dans le suc gastrique humain
(Dosage, Nature, Physiologie, Pathologie)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 4 octobre 1961

POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR EN MEDECINE

PAR

PIERRE NABET

né le 3 avril 1936 à Oujda (Maroc)

Assistant à la Faculté de Médecine
Lauréat de la Faculté

Examineurs de la thèse	{	MM. WOLFF, <i>Professeur</i> , Président.	{	Juges
		BODART, <i>Professeur</i> ,		
		RAUBER, <i>Professeur sans chaire</i> ,		
		LARCAN, <i>Agrégé</i> ,		

NANCY
IMPRIMERIE GEORGES THOMAS
Angle des rues de Solignac et Henri-Lepage
1962



Université de Nancy - Faculté de Médecine

Doyen: M. A. BEAU

Assesseur: M. J. ROUSSEL

Doyens Honoraires

MM. LUCIEN, MERKLEN, Jacques PARISOT et P. SIMONIN

Professeurs Honoraires

MM. JACQUES, JEANDELIZE, FRUHNSHOLZ, SANTENOISE, CHAILLET-BERT,
HAMANT, BINET, ABEL, MUTEL, FRANCK, MELNOTTE, VERMELIN.

PROFESSEURS

Anatomie	M. BEAU.
Anatomie pathologique	M. FLORENTIN.
Bactériologie et Parasitologie	M. HELLUY.
Chimie biologique	M. WOLFF.
Clinique Chirurgicale A	M. CHALNOT.
Clinique Chirurgicale B	M. BODART.
Clinique Dermato-Syphiligraphique	M. BEUREY.
Clinique gynécologique	M. BERTRAND.
Clinique médicale A	M. MICHON P.
Clinique médicale B	M. KISSEL.
Clinique médicale infantile	M. NEIMANN.
Clinique obstétricale	M. HARTEMANN J.
Clinique ophtalmologique	M. THOMAS.
Clinique oto-rhino-laryngologique	M. GRIMAUD.
Clinique Stomatologique	M. GOSSEREZ.
Clinique de Pneumo-ptisiologie	M. LAMY.
Clinique des voies urinaires	M. GUILLEMIN.
Electro-radiologie clinique	M. ROUSSEL.
Embryologie	M. DOLLANDER.
Histologie	M. LEGAIT.
Hydrologie thérapeutique et climatologique ..	M. MERKLEN.
Hygiène et médecine sociale	M. SENAULT.
Médecine Légale	M. HEULLY.
Médecine du travail et réadaptation	M. PIERQUIN.
Pathologie chirurgicale	M. LOCHARD.
Pathologie médicale	M. HERBEUVAL.
Physiologie	M. ARNOULD P.
Physio-pathologie respiratoire	M. BURG.
Stomatologie	M. HOUPERT.
Thérapeutique	M. LOUYOT.

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

Physiologie	M. GRANDPIERRE.
-------------------	-----------------

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie pathologique	M. RAUBER.
Obstétrique	M. HARTEMANN J.

MAITRES DE CONFERENCES AGRÉGÉS

Anatomie	M. CAYOTTE.
Bactériologie	M. de LAVERGNE.
Chimie	M. PAYSANT.
Histologie	M. GRIGNON.
Hygiène	M. SENAULT.
	M. DEBRY.
Médecine	M. HARTEMANN P.
Pathologie expérimentale	M. LACOSTE.
Pharmacologie	M. LAMARCHE.
Physique	M. MARTIN J.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

Chirurgie	M. BENICHOX.
Chirurgie	M. SOMMELET.
Chirurgie	M. MICHON J.
Chirurgie	M. GROSIDIER.
Dermatologie	M. BEUREY.
Médecine	M. FAIVRE.
Médecine	M. DUREUX.
Médecine	M. LARCAN.
Médecine infantile	M. PIERSON M.
Neurologie et psychiatrie	M. ARNOULD G.
Neuro-chirurgie	M. LEPOIRE.
Obstétrique	M. RIBON.
Ophthalmologie	M. ALGAN.

CHARGÉS DE COURS

Anatomie	M. PREVOT.
Cardiologie	M. FAIVRE.
Chirurgie et orthopédie infantiles	M. BEAU.
Gériatrie	M. HERBEUVAL.
Hématologie et transfusion sanguine	M. STREIFF.
Maladies infectieuses	M. GERBAUT.
Maladies mentales	M. HACQUARD.
Ophthalmologie	M. CORDIER.
Pathologie obstétricale	M. HARTEMANN J.
Physiologie obstétricale	M. RICHON.
Psychiatrie infantile	M. TRIDON.
Sémiologie et propédeutique chirurgicales ..	M. ANDRÉ.

AGRÉGÉS LIBRES

Chirurgie	M. ARNUF.
Chirurgie	M. ANDRÉ.
Obstétrique	M. RICHON.
Ophthalmologie	M. CORDIER.

Enseignements complémentaires
Certificats d'Etudes Spéciales, Diplômes et Attestations d'Etudes

Anatomie pathologique humaine	M. FLORENTIN, Professeur.
Anesthésiologie	M. CHALNOT, Professeur.
Bactériologie médicale et technique	M. BODART, Professeur.
Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports	M. HELLUY, Professeur.
Cardiologie	M. MERKLEN, Professeur.
Chirurgie générale	M. PERNOT, Chargé de cours.
Chirurgie et orthopédie infantiles	M. CHALNOT, Professeur.
Dermato-vénérologie	M. BODART, Professeur.
Endocrinologie clinique	M. BEAU, Professeur.
Génétique	M. BEUREY, Agrégé.
Gynécologie	M. HARTEMANN, Prof. agrégé.
Hématologie	M. NEIMANN, Professeur.
Hématologie supérieure	M. BERTRAND, Professeur.
Hydrologie et climatologie	M. DELACOTE, Chargé de cours.
Hygiène, action sanitaire et sociale	M. MICHON, Professeur.
Electro-radiologie	M. MERKLEN, Professeur.
Médecine aéronautique	M. MELNOTTE, Professeur.
Médecine générale	M. SENAULT, Agrégé.
Médecine légale	M. DEBRY, Agrégé.
Médecine du travail	M. ROUSSEL, Professeur.
Neuro-psychiatrie	M. MERKLEN, Professeur.
Obstétrique	M. GRANDPIERRE, Professeur.
Ophthalmologie	M. KISSEL, Professeur.
Oto-rhino-laryngologie	M. MICHON, Professeur.
Pédiatrie et puériculture	M. HERBEUVAL, Professeur.
Pneumo-ptisiologie	M. HEULLY, Professeur.
Radiodiagnostic	M. PIERQUIN, Professeur.
Rhumatologie	M. KISSEL, Professeur.
Sérologie	M. ARNOULD G., Agrégé.
Stomatologie	M. HACQUARD, Chargé de cours.
Urologie	M. VERMELIN, Professeur.
	M. HARTEMANN J., Pr. sans chaire.
	M. RIBON, Agrégé.
	M. THOMAS, Professeur.
	M. CORDIER, Agrégé libre.
	M. GRIMAUD, Professeur.
	M. NEIMANN, Professeur.
	M. PIERSON M., Agrégé.
	M. LAMY, Professeur.
	M. BRIQUEL, Chargé de cours.
	M. ANTOINE, Chargé de cours.
	M. LOUYOT, Professeur.
	M. HELLUY, Professeur.
	M. GOSSEREZ, Professeur.
	M. GUILLEMIN, Professeur.

Secrétaire: M. SEUROT.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver, ni les improuver.

A notre Maître et Président de Thèse,

MONSIEUR LE PROFESSEUR WOLFF

Professeur de Chimie Médicale
Chevalier de la Légion d'Honneur

*Nous avons eu l'honneur d'être son élève,
qu'il veuille croire à notre reconnaissance
pour sa sollicitude à notre égard.*

A nos Juges,

MONSIEUR LE PROFESSEUR BODART

Professeur de Clinique Chirurgicale
Chevalier de la Légion d'honneur

MONSIEUR LE PROFESSEUR RAUBER

Professeur sans chaire d'Anatomie Pathologique

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ LARCAN

Professeur Agrégé de Médecine

Nous tenons à remercier très vivement, pour la confiance qu'ils nous ont témoignée en nous communiquant leurs malades et leurs observations :

- Messieurs les Professeurs A. BODART, P. KISSEL, N. NEIMANN, P. MICHON,
- Messieurs les Docteurs J. BOUSSER, Médecin de l'Hôtel-Dieu, R. GRASBECK, Chef de Laboratoire du Service du Professeur Von BONSDORFF de Helsinki,
- Messieurs les Professeurs Agrégés G. BILSKY-PASQUIER, D. CHRISTOL, F. BESANCON, A. LARCAN, J. DEBRY, J.-B. DUREUX,
- Messieurs les Docteurs F. STREIFF, G. GENTIN.

A MES PARENTS

*En témoignage de mon filial attachement
et de ma respectueuse gratitude.*

A MA FEMME,

*Qu'elle trouve ici une preuve de ma pro-
fonde affection.*

A MES BEAUX-PARENTS,

A MES FRÈRES,

AUX MIENS ET A MES AMIS.

SERMENT

Sur ma conscience, en présence de mes maîtres et de mes condisciples, je jure d'exercer la médecine suivant les lois de la morale et de l'honneur, et de pratiquer scrupuleusement tous mes devoirs envers les malades, mes confrères et la Société.

PLAN

AVANT-PROPOS.

HISTORIQUE.

Notion de facteur intrinsèque.

Démonstration de son rôle.

MÉTHODES DE DOSAGE DU FACTEUR INTRINSÈQUE.

Méthodes basées sur la mesure de l'absorption de la vitamine B12.

Mesure du bilan fécal.

Méthode de GLASS.

Méthode de SCHILLING.

Méthodes basées sur la fixation de la vitamine B12 par des tissus animaux.

Méthodes « In vivo ».

chez le rat

— Technique

— Résultats

chez le cobaye

— Technique

— Résultats

Méthodes « In vivo »

Premières méthodes

Méthode employée dans ce travail.

Technique de mesure « In vivo » de l'activité en facteur intrinsèque d'un suc gastrique.

1) Description de la technique.

a à g — Manipulation et comptage.

h — Récolte des sucs gastriques et leurs préparations.

2) Résultats.

- a — Effet du « facteur intrinsèque ».
 - Absence de facteur intrinsèque.
 - Effet d'un suc gastrique normal.
- b — Effet de la concentration en vitamine B12.
- c — Effet de la concentration saline.
- d — Effet du prélèvement,
 - Chez des cobayes différents.
 - Chez le même cobaye: Topographie intestinale du prélèvement.
- e — Précautions lors des manipulations.

3) Dosage.

- a — Courbe de référence.
- b — Détermination de l'activité en « facteur intrinsèque » d'un suc gastrique inconnu.

Méthodes autres.

PHYSIOLOGIE DU FACTEUR INTRINSÈQUE.

Nature et propriété physico-chimiques.

Propriétés physiologiques.

- 1) Lieu de sécrétion.
- 2) Lieu et mode d'action.
 - a — Théorie du facteur antipernicieux.
 - b — Théorie de la combinaison du facteur intrinsèque avec la vitamine B12.
 - c — Action catalytique du facteur intrinsèque.
- 3) Propriétés physiologiques liées à la nature du facteur intrinsèque.
 - a — Spécificité.
 - b — Nature antigénique.

4) Facteurs inhibiteurs.

Le facteur intrinsèque en fonction de l'âge chez le sujet normal.

Le facteur intrinsèque chez l'adulte normal.

Le facteur intrinsèque chez l'enfant normal.

Les facteur intrinsèque chez le vieillard normal.

LE FACTEUR INTRINSÈQUE EN PATHOLOGIE.

L'anémie de Biermer.

Point de vue actuel de la question.

Investigations menées au Laboratoire.

a — Observations.

b — Conclusions.

c — Cas limites.

Gastrite atrophique.

Etat actuel de la question.

Investigations faites au Laboratoire.

a — Observations.

b — Conclusions.

L'anémie hypochrome ferroprive achlorhydrique.

Rappel clinique et pathogénique de cette affection.

Investigations menées au Laboratoire.

a — Observations.

b — Conclusions.

Essai d'interprétation.

DISCUSSION.

CONCLUSIONS.

AVANT-PROPOS

Le travail que nous allons exposer, nous a été proposé par M. le Professeur WOLFF et a été entièrement effectué sous sa haute direction dans le Laboratoire de Chimie Biologique de la Faculté de Médecine de Nancy.

Nous sommes heureux d'exprimer à notre Maître toute notre gratitude et notre attachement. L'intérêt qu'il n'a cessé de nous manifester, ses suggestions, ses critiques et son aide, nous ont été d'un grand secours et, sans eux, nous n'aurions pu mener ces recherches.

Nous adressons tous nos remerciements à M. le Professeur BODART pour la facilité que nous avons rencontrée dans son service, et pour avoir accepté de faire partie de notre jury.

Nous remercions également M. le Professeur RAUBER et M. le Professeur Agrégé LARCAN qui ont aidé et rendu le travail possible, et qui ont accepté d'être nos juges.

Nous tenons également à remercier M. BRIGNON, Docteur en Pharmacie, Chef de travaux à la Faculté de Médecine, pour toute l'aide qu'il nous a portée jusqu'à présent, ainsi que M. le Professeur Agrégé PAYSANT, et tous les membres du Laboratoire pour la cordiale atmosphère qu'ils ont su créer au Laboratoire de Chimie Biologique.

Nous désirons également témoigner notre reconnaissance à M. le Professeur BUGNARD, Directeur de l'Institut National d'Hygiène et à la Caisse Nationale de Sécurité Sociale pour l'aide matérielle qui a rendu ces recherches possibles.

HISTORIQUE

Notion du facteur intrinsèque

La notion de l'existence d'un facteur gastrique qui intervient dans l'anémie de Biermer est liée à l'entité étiologique étudiée par ADDISON en 1855 (1) et BIERMER en 1872 (2) et appelée en France: anémie de Biermer ou anémie perniciose. Cependant, il faut reconnaître qu'on réserve actuellement le terme d'anémie perniciose dans les pays Anglo-Saxons à l'anémie mégaloblastique liée à une carence de la sécrétion gastrique en facteur intrinsèque, appelé aussi facteur de CASTLE; en France, le terme comprend l'ensemble des anémies mégaloblastiques dues ou non à une carence en ce facteur.

Alors que dans les travaux antérieurs à ceux de MINOT et MURPHY, cette affection était considérée comme une génodystrophie ayant comme conséquence un développement embryonnaire de la lignée rouge primordiale, donnant lieu à la production du mégaloblaste et s'y arrêtant au lieu d'évoluer vers l'érythroblaste et l'érythrocyte, les travaux de ces auteurs ont montré qu'une thérapeutique faite de foie de veau cru faisait disparaître, et le mégaloblaste et l'anémie (signe principal de cette affection) qui l'accompagnait. Cela faisait apparaître cette affection comme la conséquence d'une carence en un facteur appelé à l'époque: facteur antipernicieux. Le foie était, d'après ces auteurs, le lieu de réserve de ce facteur antipernicieux.

Ces recherches furent rendues possibles grâce à la mise au point de méthodes de mesure de l'activité de facteur

antianémique, consistant en la numération globulaire faite dans des conditions bien définies et en l'observation de la réaction médullaire au stimulus érythropoïétique, caractérisée par la crise réticulocytaire.

La crise réticulocytaire qui ne se produit que transitoirement à la suite d'un stimulus érythropoïétique est caractérisée par l'apparition de réticulocytes dans le sang environ 7 jours après le traitement. Elle ne persiste que quelques jours et toute nouvelle crise ne se produit que si le second stimulus dépasse en intensité le premier. L'augmentation du nombre de globules rouges fait suite à cette crise et on note une réaction d'autant plus forte que l'anémie était prononcée. On conçoit alors aisément que le sujet, atteint d'anémie de Biermer en état de crise ou de rechute, puisse constituer un substrat biologique propre à évaluer l'activité de produits antianémiques et de produits doués des propriétés du facteur intrinsèque.

Rappelons que malgré de nombreuses tentatives, on n'a jamais réussi à réaliser une anémie expérimentale du type Biermer. Les difficultés pour trouver des sujets atteints d'anémie de Biermer en état de crise et de rechute, sont à l'origine de la lenteur des progrès dans la compréhension de l'étiologie de cette affection.

L'existence constante, dans l'anémie de Biermer, d'une atrophie gastrique attira rapidement l'attention sur les corrélations possibles entre cette lésion et le syndrome carentiel.

A CASTLE revient le mérite d'avoir le premier attiré l'attention sur une telle corrélation et d'avoir montré le rôle essentiel d'une sécrétion par l'estomac d'un facteur glandulaire. A la vérité, CASTLE, dans ses premiers essais, ne démontre que le rôle essentiel de la sécrétion gastrique pour permettre à un repas de viande d'exercer une action curatrice dans l'anémie pernicieuse. En effet, un repas de viande seule était inefficace, mais mélangée à du suc gastrique d'un sujet normal, son action thérapeutique se manifestait, alors que le suc gastrique administré sans viande restait également inactif. CASTLE construisit, sur ces données ex-

périmentales, un schéma selon lequel la viande contenait un facteur, dit extrinsèque, et que l'interaction entre ce facteur extrinsèque et le facteur intrinsèque contenu dans un suc gastrique normal, donnait naissance au « facteur antipernicieux » identique à celui présent sous forme de réserve dans le foie cru.

Si la nature du facteur extrinsèque et du facteur antipernicieux n'était pas connue à l'époque des premiers travaux de CASTLE, cet auteur donne déjà certaines propriétés du facteur intrinsèque: substance de nature protidique, thermolabile, différente de la pepsine, mais présentant le caractère d'un enzyme. D'ailleurs la réaction d'interaction était, d'après cet auteur, de nature enzymatique.

En 1948, la découverte de la vitamine B₁₂ faite par FOLKERS et collaborateurs aux Etats-Unis, et simultanément par LESTER SMITH en Angleterre, apporte de nouvelles précisions sur la nature des facteurs extrinsèque et antipernicieux. En ce qui concerne ces facteurs, CASTLE et ses collaborateurs (82) montrèrent que le facteur extrinsèque et le facteur antipernicieux se confondaient en un seul qui n'était autre que la vitamine B₁₂, et que celle-ci n'était active, chez le biermérien, que par injection si elle était administrée toute seule. Pour être active par voie buccale, il était nécessaire d'administrer, en même temps que la vitamine B₁₂ du suc gastrique normal apportant le facteur intrinsèque.

Le rôle de ce facteur intrinsèque était dès lors celui d'un facteur chargé de permettre le passage, à travers la paroi intestinale, dans le milieu interne, de la vitamine B₁₂. En son absence, la vitamine B₁₂ ne passe pas et elle est entièrement rejetée dans les excréta.

L'efficacité du foie cru, notée par MINOT et MURPHY, en absence de tout facteur intrinsèque, est expliquée par le fait que le gros excès de vitamine B₁₂ qu'il contient fait effet de masse, et même en absence de facteur intrinsèque, une partie de la vitamine B₁₂ passe à travers l'intestin. Un fait analogue se retrouve d'ailleurs chez les biermériens,

lors du pouvoir curateur d'une forte charge orale de vitamine B₁₂ en absence de facteur intrinsèque.

La nouvelle interprétation du rôle du facteur intrinsèque était passible d'un contrôle expérimental chez l'animal et chez l'homme, soit après gastrectomie, soit au cours de l'anémie de Biermer.

Démonstration du rôle du facteur intrinsèque chez l'animal gastrectomisé

Une partie de l'estomac étant le siège de la sécrétion du facteur intrinsèque, il est logique d'en conclure que la gastrectomie supprime une telle sécrétion. Afin de vérifier cette notion, CASTLE, NIEWEG et collaborateurs ont les premiers pratiqué la gastrectomie totale chez le rat. Si les effets d'une telle opération ne se traduisent pas par une anémie mégaloblastique, cela tient exclusivement au délai insuffisant observé entre la gastrectomie et l'étude hématologique.

PAULSON et HARVEY (81) ont montré, dès 1954, l'existence de troubles hématologiques chez l'homme après gastrectomie totale, se traduisant par l'aspect cytologique observé dans l'anémie de Biermer et apparaissant environ une décade après l'opération. Dans des épreuves de courtes durées (de quelques semaines à un mois au plus) de telles altérations ne se produisent pas. En revanche, il est facile de noter chez le rat opéré une suppression quasi totale de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂. Afin de mesurer cette absorption intestinale, ces auteurs ont administré des doses connues de vitamine B₁₂ radioactive et ils ont mesuré l'élimination fécale.

Nous avons, sous la direction de M. le Professeur WOLFF, apporté quelques modifications à la technique de la gastrectomie (4) et à la mesure de la radioactivité fécale (23) chez le rat.

Afin d'augmenter la précision des mesures, nous avons prolongé l'expérience jusqu'à disparition totale de toute trace de radioactivité dans les matières fécales, et nous

avons effectué les mesures de cette radioactivité sur la totalité des matières fécales éliminées pendant ce laps de temps.

Afin de rendre une telle mesure possible sur le volume considérable des matières fécales recueillies, il a été nécessaire de les incinérer. Le procédé permettait d'en réduire considérablement la masse, sans pour autant faire subir la moindre perte de radioactivité.

Dans ces conditions, nous avons pu, dans l'ensemble, confirmer les résultats observés par CASTLE et ses collaborateurs chez le rat gastrectomisé: 85 à 95 % de la vitamine B₁₂ ingérée apparaissaient dans les matières fécales.

De plus, ces auteurs notèrent que ces mêmes rats gastrectomisés, recevant en plus de la vitamine B₁₂, du suc gastrique provenant de rats normaux, absorbaient la vitamine à un taux normal: la vitamine B₁₂ fécale ne dépassait pas 60 à 70 % de la quantité ingérée.

Chez l'homme, la gastrectomie subtotale ne provoque, dans la grande majorité des cas, pas de mégaloblastose, mais chez 9 sujets sur 11 ayant subi une gastrectomie subtotale suivie de gastrojejunostomie, l'absorption orale de vitamine B₁₂ était diminuée; elle pouvait être amenée à un taux normal par ingestion concomittante de suc gastrique d'un sujet normal.

Ainsi se trouvait défini le rôle du facteur intrinsèque, comme celui d'un agent chargé de permettre le passage de la vitamine B₁₂ à travers la paroi intestinale.

La notion du « facteur intrinsèque », ainsi dûment établie par toutes ces expériences, et bien que de rares personnes en discutent encore l'entité et même l'existence (18), les auteurs se sont efforcés de pouvoir le doser chez l'homme dans diverses circonstances: que ce soit chez le sujet sain et aux différentes étapes de sa vie, ou encore chez le sujet atteint de différentes affections d'ordre hématologique, gastrique ou intestinal, etc...

Dans ce qui va suivre, nous aborderons l'étude des méthodes actuelles de dosage du facteur intrinsèque, en exposant celles employées jusqu'à présent dans l'ordre chronologique de leurs publications, et celles mises au point par le Professeur WOLFF lui-même ou avec notre collaboration. Dans une autre partie, nous traiterons des résultats obtenus par les différents auteurs et nous-même dans les différentes affections envisagées plus haut, après avoir passé en revue la physiologie du facteur intrinsèque.

MÉTHODES DE DOSAGE DU FACTEUR INTRINSÈQUE

A vrai dire, les principales méthodes proposées jusqu'à ce jour ont essentiellement pour objet la mesure de l'absorption globale de la vitamine B₁₂. Elles n'explorent pas tous les facteurs en cas de trouble de l'absorption. Or, les travaux récents (HERBERT et collaborateurs — 20 —) ont permis de discerner plusieurs facteurs qui interviennent dans l'absorption de la vitamine B₁₂ et donc dans la genèse d'une anémie mégaloblastique.

Si la présence de suc gastrique normal contenant du facteur intrinsèque constitue une condition indispensable à l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂, cette présence n'est pas suffisante et la paroi intestinale, en état fonctionnel normal, constitue un deuxième facteur indispensable. On sait, en effet, que celle-ci perd ses propriétés d'absorption dans certaines affections classées sous la dénomination générale de « Syndrome de Malabsorption », telles que la sprue, la maladie cœliaque, etc...

D'autre part, une anémie mégaloblastique peut apparaître lors de carences en vitamine B₁₂, telles qu'on les observe chez certains végétariens appelés « Vegans » (21), dont le régime alimentaire est privé de vitamine B₁₂, ou encore plus fréquemment chez les sujets parasités par le botriocéphale (*Diphyllobotrium latum*), parasite qui absorbe pour son propre compte la vitamine B₁₂ intestinale au détriment de son hôte (22).

Enfin, il faut ajouter que toute anémie mégaloblastique ne reconnaît pas, comme origine, une carence en vitamine B₁₂ et que souvent (grossesse, enfant, sujets soumis à des traitements anti-épileptiques) une carence en acide folique seule est en cause, ou encore une carence mixte. On ne saurait donc tirer de la seule découverte d'une mégaloblastose ou du seul défaut d'absorption de la vitamine B₁₂ la conclusion d'une absence de facteur intrinsèque et donc de maladie de Biermer.

Ces méthodes, basées sur la mesure de l'absorption de la vitamine B₁₂, ont néanmoins servi jusqu'à présent à étudier et à doser le facteur intrinsèque en passant par un biais qui consiste à étudier les modifications de cette absorption intestinale sous l'influence d'un suc gastrique normal. C'est la raison pour laquelle nous allons les décrire brièvement.

Les principales méthodes sont aux nombres de trois : la mesure du bilan fécal, la méthode de GLASS et celle de SCHILLING ; elles ont été pratiquées jusqu'à ce jour sur une grande échelle.

Méthodes basées sur la mesure de l'absorption de la vitamine B₁₂

MESURE DU BILAN FÉCAL

La méthode de dosage de la vitamine B₁₂ absorbée, par la mesure du bilan fécal chez un sujet recevant une dose connue de vitamine B₁₂ radioactive a été utilisée par HEINLE, WELCH (19) et collaborateurs pour l'étude de cette absorption chez l'homme. Mais elle s'est heurtée à des difficultés d'ordre pratique qui l'ont empêchée de devenir routine et elle a dû être abandonnée.

Certains auteurs ont pensé pouvoir utiliser le même test pratiqué non plus chez l'homme, mais chez le rat gastrectomisé. Leur pensée était d'employer ces rats pour le dosage de l'activité en « facteur intrinsèque » d'extraits d'es-

tomac de porc et non en clinique humaine, car le facteur intrinsèque humain n'agit pas chez le rat, de même que pour l'étude de l'action physiologique du facteur intrinsèque (3).

Deux difficultés cependant se présentaient, dont la moindre était la mesure exacte du bilan fécal. La mesure de la radioactivité, pour être précise, doit en effet porter sur la totalité des matières fécales excrétées en 12 jours, ce qui représente un volume trop important pour être compté au compteur à scintillation en une seule fois. Nous avons décrit une méthode pratique pour la mesure de ce bilan fécal chez le rat normal et chez le rat gastrectomisé (23). Elle consiste à pratiquer une incinération des crottes, réduisant celles-ci en cendres qui peuvent être tassées dans un tube à essai sans que le volume ne dépasse 2 à 3 cm de hauteur. Ni l'incinération, ni le tassage des cendres n'ont une action quelconque sur la radioactivité et sa mesure. La seconde difficulté résidait dans l'obtention des rats gastrectomisés. C'est en effet une technique qui bien qu'au point, est longue et délicate (4). Il faut ajouter que les animaux opérés sont délicats, sujets aux infections; ils dépérissent rapidement et ne peuvent être suivis longtemps.

Ces raisons ont fait préférer, à la mesure du bilan fécal, des techniques, telles que celles de GLASS et celles de SCHILLING.

MÉTHODE DE GLASS

En faisant absorber par la voie orale, à un sujet normal, un certain nombre de microcuries de vitamine B₁₂ à cobalt 60, on peut suivre le cheminement de celle-ci au moyen d'un compteur à scintillation qu'on applique sur diverses régions de l'abdomen. On constate ainsi que la radioactivité apparaît dans la zone constituée par la projection de l'aire hépatique sur l'abdomen et le thorax, cependant qu'une partie importante reste localisée dans l'intestin. Après une purge et un laps de temps de 8 à 14 jours, la radioactivité intestinale a disparu, alors que celle hépatique est restée et peut être mesurée.

Tel est le cas lorsque le sujet est normal et a absorbé la vitamine B₁₂ donnée oralement, au niveau de son intestin. Il faut faire remarquer que cette radioactivité hépatique se maintient pendant de longs mois, sinon des années et qu'il ne convient pas de répéter trop souvent une telle épreuve chez un même sujet en raison de l'accumulation de la radioactivité dans le foie. Remarquons que plus récemment, l'emploi de la vitamine B₁₂ marquée par le cobalt 58, de durée de vie nettement plus courte, a fortement atténué ce danger.

Chez le sujet atteint d'anémie de Biermer, qu'il soit en rechute ou en rémission, la fixation hépatique de la vitamine B₁₂ radioactive est très faible sinon nulle. Elle devient par contre plus importante et normale si on donne au sujet du facteur intrinsèque. Cette méthode peut ainsi servir à étudier l'activité du facteur intrinsèque de sucs gastriques de divers sujets, ou d'extraits de muqueuse gastrique en vue de leur titrage.

Mais les difficultés d'approvisionnement en Biermériens, de même que la limitation imposée par l'accumulation dans le foie d'un produit radioactif s'opposent à un emploi systématique de ce test pour l'étude du facteur intrinsèque en biologie et en pathologie, bien que l'emploi du cobalt 58 diminue les risques comme nous l'avons vu, l'inconvénient cependant de cet isotope est qu'il ne peut être stocké dans un service car il se détruit rapidement.

MÉTHODE DE SCHILLING

En 1950, SCHILLING a proposé une méthode de dosage de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ qui repose sur le fait que si la vitamine B₁₂ absorbée par la voie orale n'apparaît pas dans les urines, en revanche celle administrée par injection y passe rapidement. Au surplus, celle-ci peut entraîner une partie de celle absorbée par la voie orale; si la vitamine orale est une vitamine radioactive et qu'elle est suivie d'une administration parentérale d'une

forte dose de vitamine B₁₂ ordinaire, on verra, à la suite d'une dilution isotopique dans le milieu intérieur, apparaître dans les urines de 24 heures un certain pourcentage de radioactivité totale administrée. Ceci à condition que la vitamine B₁₂ orale ait été absorbée, c'est-à-dire chez le sujet normal. C'est ainsi que chez ces sujets 10 à 30 % de la vitamine B₁₂ radioactive, administrée par la voie orale, passe dans les urines.

Chez le biermérien et dans tout autre syndrome de malabsorption de la vitamine B₁₂, la radioactivité recueillie atteint en général à peine 2 à 4 % de la dose ingérée. Là encore l'administration concomitante à la vitamine B₁₂ d'un suc gastrique normal ou d'un extrait de muqueuse gastrique de porc augmente l'absorption et donc le taux d'élimination urinaire jusqu'à lui faire atteindre un taux normal. Une standardisation du test de SCHILLING a été mise au point au VII^e Congrès Scandinave de Chimie Clinique et de Physiologie Clinique à Elsinore en 1959, et qui est la suivante:

Patient à jeun depuis 12 heures, n'ayant pas bu depuis 4 heures avant le test.

On donne oralement 1 γ (gamma) de vitamine B₁₂ à Co⁶⁰ (radioactivité spécifique pouvant aller jusqu'à 1 $\mu\text{C}/\gamma$) dans l'eau distillée: 200 cc environ pour un adulte, 50 cc pour un nouveau-né.

On injecte en I.M., 90 minutes après l'absorption orale, une dose de 1 000 γ de B₁₂ non marquée; le patient peut se nourrir ensuite.

Les urines sont collectées pendant 24 heures à partir de l'ingestion de la vitamine B₁₂ marquée.

La radioactivité est exprimée en pourcentage de celle administrée.

Le test n'est pas répété avant cinq jours.

Noter toujours quelles substances, administrées au patient par ailleurs, pourraient perturber le test: Facteur intrinsèque, Sorbitol, antibiotiques, calcium, extraits ou hormones thyroïdiennes, corticoïdes, etc...

Les mêmes remarques faites au sujet de la méthode de GLASS s'appliquent à la méthode de SCHILLING :

Son emploi pour le dosage de produits à activité « facteur intrinsèque » se heurte à la difficulté d'approvisionnement en sujets atteints d'anémie pernicieuse; de plus, la reproductibilité du test chez le même individu n'est pas très grande.

Quant à son emploi en clinique humaine, il présente bien des inconvénients qui sont surtout :

Le manque de spécificité, ce test n'étant en effet que le reflet de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ Co⁶⁰. Ainsi, si l'on veut différencier un syndrome de malabsorption d'une anémie de Biermer, il faut recommencer le test en donnant au malade du facteur intrinsèque conjointement à la vitamine B₁₂ Co⁶⁰. Encore dans certains cas, les préparations commerciales à base d'extrait d'estomac de porc provoquent-elles une « immunité » chez le patient, ne permettant pas la correction de la malabsorption de la vitamine B₁₂.

La réserve que manifestent certains auteurs à donner des produits radioactifs dont on ne connaît encore pas les effets lointains et cela surtout chez la femme enceinte et le jeune enfant.

Cependant, la technique simple et rapide ne nécessitant pas d'hospitalisation, ainsi que la possibilité de routine, ont fait que, malgré ses inconvénients, cette méthode jouit d'une grande vogue. Elle n'a tout de même pas permis une exploration complète et facile du facteur intrinsèque en clinique humaine.

Les deux objections faites à propos du test de SCHILLING ne sont plus valables, si la vitamine B₁₂ radioactive n'est plus administrée à l'homme et si l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique du patient peut être mesurée. C'est ce que différents auteurs, et nous-mêmes, nous sommes efforcés de réaliser par deux méthodes différentes, in vivo chez l'animal, et « in vitro ».

Méthodes basées sur la fixation de la vitamine B₁₂ Co⁶⁰ par des tissus animaux

On a vu que dans les méthodes décrites précédemment, les auteurs ont étudié l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ en mesurant, soit celle fixée par le foie, soit celle passant dans le milieu intérieur et entraînée en partie dans les urines.

Plusieurs auteurs ont abordé l'étude de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ telle qu'on l'observe chez l'animal. Celle-ci peut être mesurée, soit en déterminant le taux qui a passé dans la totalité des organes comme l'a fait HOLDSWORTH chez le rat ou, au contraire, s'arrêter à la première étape de cette absorption qui est constituée par la fixation intestinale. La mesure consistant à déterminer le taux de vitamine B₁₂ fixé par la muqueuse intestinale, après contact de quelques heures entre celle-ci et la vitamine B₁₂ sous l'influence de doses variables de facteur intrinsèque.

MÉTHODES « IN VIVO »

Méthodes « in vivo » chez le rat

HOLDSWORTH et COATES (5-6) montrent qu'une fixation de vitamine B₁₂ a lieu dans l'intestin du rat normal, à condition de séparer cet intestin de l'estomac et du cæcum par deux ligatures, et de le débarrasser de ses matières, et surtout du facteur intrinsèque propre à l'animal par une perfusion d'une solution physiologique à 37° C; l'intestin étant maintenu pendant tout ce temps « In Situ ».

Si l'expérience est prolongée 12 et 24 heures, ces mêmes auteurs retrouvent la vitamine B₁₂ dans la muqueuse intestinale, mais également dans le foie et dans la carcasse, en présence de facteur intrinsèque. En absence de ce facteur, il n'y a aucune fixation et aucun passage.

NIEWEG et ses collaborateurs en 1957 (3) montrent que l'intestin du rat gastrectomisé fixe la vitamine B₁₂ lorsque celle-ci est introduite dans une anse intestinale, en même temps qu'un extrait de muqueuse gastrique de rat. La vitamine introduite dans l'anse est de la vitamine B₁₂ à Co-

balt 60, et le taux d'absorption de cette vitamine est mesuré par la radioactivité retenue par le tissu qui a été maintenu *in situ* et vivant.

Cette radioactivité est mesurée après sacrifice de l'animal, suivi d'un lavage et de l'isolement de l'anse intestinale. Ces auteurs montraient que cette absorption intestinale de la vitamine B₁₂ était rapide dans ces conditions et déjà facilement mesurable après 12 à 15 minutes.

Nous avons déjà dit la difficulté d'obtenir des rats gastrectomisés: opération délicate et longue que nous avons pratiquée au Laboratoire (4).

M. le Professeur WOLFF en 1958 (7) a repris l'étude de la fixation de la vitamine B₁₂ radioactive dans la muqueuse intestinale du rat normal. Dans cette technique, on a opéré sur deux types d'anses intestinales:

celle constituée par l'intestin grêle entier, isolé par deux ligatures aux extrémités,

celle constituée par une portion d'intestin grêle d'une longueur de 10 cm et situé à proximité du cæcum.

Les premières présentent l'avantage d'une grande surface d'absorption et d'un effet du facteur intrinsèque plus marqué que dans les secondes. Mais, les résultats, chez les rats soumis au traitement de vitamine B₁₂ plus facteur intrinsèque, présentent l'inconvénient d'être plus dispersés chez les premières que chez les secondes. Le mode opératoire de ces deux types d'expériences est le suivant.

Technique :

On opère sur des rats de 200 à 300 grammes à jeun depuis 24 heures, qu'on anesthésie au Nembutal en injection intrapéritonéale (6 mg par 100 g). Après incision abdominale, on ligature l'intestin grêle à ses deux extrémités et l'on y introduit deux canules, puis on ferme l'abdomen au moyen d'agrafes. On procède à un lavage par perfusion lente avec 100 ml de solution physiologique chauffée à 37° C.

Après fermeture, au moyen de pinces, des tubes de caout-

chouc reliés aux canules, on introduit, dans la lumière intestinale, un mélange de 1 ml de solution de vitamine B12 à Co⁶⁰ et de 1 ml d'extrait de muqueuse gastrique de rat, puis 1 ml d'eau. La solution est maintenue dans l'intestin pendant 45 minutes. On procède ensuite à une perfusion lente (50 ml en 30 minutes) suivie de trois perfusions rapides de 50 ml chacune.

Lorsque l'opération porte sur une anse de 10 cm, on évacue le contenu liquide de celle-ci après la première perfusion au moyen d'une seringue, et l'on introduit dans l'anse aplatie 2 ml du mélange B12 plus facteur intrinsèque, la concentration de la vitamine étant le 1/5^e de la précédente. Les lavages ne se font plus qu'avec 20 ml de solution physiologique.

L'animal est alors tué par décapitation, l'anse intestinale est enlevée, ouverte longitudinalement, lavée à trois reprises dans le soluté physiologique, portée dans des tubes et dissoute par chauffage au bain-marie dans 1 ml de lessive de soude.

La radioactivité retenue est mesurée au compteur à scintillation suivant un processus que nous reverrons. Le facteur intrinsèque utilisé dans cette expérience est obtenu par homogénéisation des parties glandulaires de douze estomacs de rats dans 60 ml d'eau et soumises à une centrifugation; 1 ml de liquide surnageant correspond à 0,2 estomac de rat.

Les résultats de cette expérience font apparaître une différence considérable dans la fixation intestinale de vitamine B12, suivant que le facteur intrinsèque est absent ou présent. Dans les expériences faites sur l'intestin grêle entier, la dispersion des résultats en présence du facteur intrinsèque est plus important que dans les expériences faites avec une anse intestinale de 10 cm.

Résultats (exprimés en c/p/m):

Intestin grêle entier:

Moyenne sans F.I. = $1,73 \pm 0,944$

Moyenne avec F.I. = $20,76 \pm 8,81$

Segment intestinal de 10 cm :

Moyenne sans F.I. = $1,52 \pm 1,164$

Moyenne avec F.I. = $10,55 \pm 2,68$

Cette expérience a servi de base pour une étude ultérieure de la fixation de la vitamine B₁₂, non plus chez le rat, mais chez le cobaye.

Méthodes « in vivo » chez le cobaye

Les recherches de STRAUSS et WILSON (24) ont montré, en effet, que, contrairement à l'intestin de rat, la spécificité d'espèce, en ce qui concerne la nature du facteur intrinsèque, était considérablement atténuée si on employait, pour étudier la fixation, l'intestin de cobaye. En effet, dans ce dernier cas, aussi bien le facteur intrinsèque de porc que le facteur intrinsèque humain, permettent à la vitamine B₁₂ Co⁶⁰ d'être absorbée par l'intestin.

La technique est semblable à celle décrite pour le rat. On utilise un cobaye mâle; l'anesthésie se fait à l'éther, pour réaliser une anesthésie légère et la perfusion se fera avec un liquide de Tyrode porté à 37° C.

Dans une première expérience, M. le Professeur WOLFF a utilisé cette méthode (25) pour le dosage de l'activité en « facteur intrinsèque » d'extraits d'estomac de porc. Les résultats montrent que le facteur intrinsèque du porc, en présence d'un mélange défini, B₁₂ plus B₁₂ Co⁶⁰ en excès, mais à un taux constant, détermine dans la paroi intestinale une fixation de la vitamine B₁₂ Co⁶⁰ qui est directement proportionnelle au taux de facteur intrinsèque du milieu. Le produit essayé était un extrait de muqueuse gastrique de porc en provenance des Laboratoires Lederle, Pearl River, New-York, appelé Wes 669.

La technique exigeait une observation rigoureuse des conditions expérimentales, et il importe d'insister sur le fait que les résultats obtenus pour chaque concentration de facteur intrinsèque représentent les moyennes obtenues en répétant la même épreuve chez vingt cobayes, les écarts individuels pouvant parfois être considérables.

La valeur de ces recherches est donc essentiellement statistique; il en résulte, du point de vue pratique, que le dosage du facteur intrinsèque de porc par cette méthode présente certaines difficultés.

Nous avons, avec notre maître, M. le Professeur WOLFF (29) repris cette technique en utilisant du suc gastrique humain comme apport le facteur intrinsèque. Ces recherches nous ont permis d'observer entre le suc gastrique normal et le suc gastrique de Biermérien, des différences considérables; en fait, chez ces derniers, il y avait absence de fixation de vitamine B₁₂ Co⁶⁰ et l'emploi de deux cobayes suffisait pour démontrer cette absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique du Biermérien.

Nous allons brièvement rappeler le procédé opératoire, et donner dans deux tableaux les résultats trouvés chez des sujets biermériens.

Technique :

On opère sur le cobaye mâle à jeun depuis la veille et soumis à une légère anesthésie à l'éther. Après ouverture de l'abdomen, on sépare par deux ligatures une longueur d'environ 12 cm de la partie de l'iléon voisine du cæcum. Le segment d'intestin est muni de deux canules de polythène, une à chaque bout. On prendra soin de conserver intactes toutes les connexions vasculaires et nerveuses de l'intestin entier. On referme le plan musculaire de l'abdomen avec du fil de lin, en laissant les extrémités des deux canules dépasser. Ces canules peuvent alors être branchées sur une circulation de solution physiologique de Tyrode portée à 37° et débitant environ 120 ml en une heure. Cette perfusion a pour but d'éliminer du segment intestinal isolé, les matières fécales et le facteur intrinsèque propre de l'animal qui pourrait y être présent. Après ce lavage, on élimine par passage d'air, tout liquide restant et on obture les canules au moyen de deux petits bouchons de caoutchouc. A travers un des bouchons, on injecte alors à la seringue,

3 ml, formés du mélange suivant: 0,5 ml de vitamine B₁₂ Co⁶⁰, plus vitamine B₁₂ non marquée, plus 0,5 ml de suc gastrique à doser, plus 2 ml de la solution de Tyrode.

On referme alors le plan cutané à l'aide d'agrafes en enfouissant les canules. On arrête l'anesthésie et on laisse l'animal au repos pendant quatre heures. Après ce laps de temps et après une nouvelle anesthésie légère, on rouvre le plan cutané, les canules sont branchées pour un deuxième lavage (200 ml en une heure et demie) afin de chasser toute vitamine B₁₂ non fixée. L'animal est ensuite tué; on recueille le segment intestinal qui est introduit dans un tube à essai et on en mesure la radioactivité au compteur à scintillation.

Résultats :

Les deux tableaux suivants donnent les résultats chez 10 sujets normaux et 9 sujets biermériens.

NOM	Taux de F.I. par ml exprimé en cpm		Moyenne	Taux moyen de FI produit en 90' exprimé en cpm
BEL...	3628,	3920	3774	830.280
SER...	2252,	2190	2221	388.675
WIB...	4164,	3258	3711	426.765
REM...	1738,	1938	1838	367.600
SAN...	1302,	1180	1241	223.380
ANT...	2824,	2486	2655	268.155
DUP...	1078,	1280	1179	97.857
MOU...	2536,	4018	3277	743.879
BER...	864,	918	891	64.152
NOE...	2728,	3934	3331	433.030

Tableau 1

Taux de facteur intrinsèque dans le suc gastrique du sujet normal (exprimé en ç/p/m par ml de suc, et dans la totalité de suc recueilli en 1 h 1/2 après stimulation à l'histamine).

NOM	Taux de F.I. par ml exprimé en cpm	Moyenne	Taux moyen de FI produit en 90' exprimé en cpm
PIL...	240 - 316	278	1556
RIC...	390 - 156	273	2593
BAR...	342 - 108	225	7650
CAR...	580 - 430	505	9090
RON...	260 - 306	283	1556
PEL...	584 - 322	453	6885
BONT...	470 - 458	464	4037
BONN...	326 - 188	257	7119
CHI...	154 - 204	179	1342

Tableau 2

Taux de facteur intrinsèque dans le suc gastrique de neuf biermériens (exprimé en c/p/m par ml de suc gastrique et dans la totalité du suc recueilli en 1 h 1/2 après stimulation à l'histamine).

Il faut cependant noter que si cette méthode permet le diagnostic formel d'une anémie pernicieuse, elle ne permet ni le dosage d'extraits de muqueuse de porc comme nous l'avons vu précédemment, ni le dosage précis du facteur intrinsèque dans le suc gastrique humain, si ce facteur intrinsèque est présent à des taux très voisins.

Un autre écueil fondamental est l'emploi délicat de cette méthode qui est laborieuse.

Il fallait alors trouver une méthode plus facile.

MÉTHODES « IN VITRO »

Premières méthodes

En 1957 déjà, M. le Professeur WOLFF (11) d'une part, LATNER (12) d'autre part, avaient entrevu la possibilité d'employer les sacs d'intestin de rat inversé, décrite en 1954 par WILSON et WISEMAN (10) et mis en incubation en présence de vitamine B12 Co⁶⁰ et de facteur intrinsèque pour

un dosage de ce dernier. Les conditions de comptage d'alors qui faisaient employer un compteur sans fenêtre, pour rayonnement β et dans lequel le comptage devait se faire sur une partie aliquote d'un homogénat d'organe débarrassée de toute impureté, c'est-à-dire suivant un mode opératoire introduisant des erreurs, n'avaient pas permis d'apporter des éléments statistiquement valables, malgré des résultats encourageants.

Elle fut cependant abandonnée. Mais la technique de l'incubation continue à inspirer des auteurs: HERBERT propose en 1958 comme substrat de fixation de la vitamine B₁₂, des coupes de foie de rat. Il remarque, en effet, que la fixation de vitamine B₁₂ Co⁶⁰ est accrue en présence de facteur intrinsèque, et qu'elle est basse en présence de suc gastrique de biermérien (9). Il note d'ailleurs lui-même plus tard que la présence de substances pouvant se combiner à la vitamine B₁₂ et autres que le facteur intrinsèque, perturbent les résultats. Mais la principale critique faite à ce travail est que la fixation produite en présence de facteur intrinsèque au niveau de ces coupes de foie pouvait n'être qu'un artéfact, cette substance n'ayant pas son action habituelle à ce niveau, et au surplus, le suc gastrique utilisé provenant du porc. Cette méthode également a été abandonnée par son auteur même.

L'apparition et l'emploi courant des compteurs à scintillation permettant la mesure du rayonnement γ émis par le Co⁶⁰ fixé dans des tissus sans purification préalable a permis de reprendre le problème à sa base. Le second apport important fut la notion démontrée par STRAUSS et WILSON que la spécificité d'espèce en ce qui concerne le suc gastrique humain ou de porc, ne jouait plus, si l'on utilisait l'intestin de cobaye.

Méthode employée dans ce travail

Reprenant ces données de bases, M. le Professeur WOLFF et nous-mêmes, avons mis au point une technique de dosage que nous exposons en détail dans le chapitre suivant (71).

Cette méthode présente de nets avantages, que nous discuterons plus tard, sur les méthodes couramment employées actuellement comme celles de GLASS et de SCHILLING.

**Technique de mesure « in vitro » de l'activité
en « facteur intrinsèque » d'un suc gastrique**

TECHNIQUE

Un cobaye mâle ou femelle, non à jeun, d'environ 400 à 800 grammes est tué d'un coup à la nuque; les poils de l'abdomen sont rasés, le ventre ouvert. On repère l'abouchement de l'iléon au cæcum; près de cet abouchement et sur l'intestin grêle, on remarque une grosseur de la taille d'une lentille qu'il faut exclure du prélèvement. Depuis cette grosseur, on prélève sur l'iléon une longueur d'intestin d'environ 16 à 20 cm. On débarrasse rapidement cette portion d'intestin du gros des matières qu'elle contient à l'aide de 20 ml d'une solution de KREBS-HENSELEIT, injectés à la seringue.

On place ensuite le prélèvement dans une boîte de Pétri remplie de solution KREBS-HENSELEIT et l'on travaillera dorénavant l'organe immergé dans ce liquide, en évitant le plus possible, la manutention.

a) L'intestin est retourné sur lui-même à l'aide d'une baguette de verre arrondie à son extrémité, d'un diamètre d'environ 4 mm. Pour cela, on embroche le morceau d'intestin à une de ses extrémités et on fait coulisser l'intestin sur la baguette de verre en le manipulant doucement. On retire ensuite la baguette, la muqueuse se trouve alors vers l'extérieur. On découpe ce morceau d'iléon en quatre parties égales qui serviront à faire les sacs.

b) *Constitution d'un sac*: On ligature l'une des extrémités d'un morceau d'intestin à l'aide de fil de lin; l'autre extrémité est ligaturée sur une aiguille à pointe mousse

pour ne pas léser le tissu, et branchée sur une seringue contenant la solution de KREBS-HENSELEIT; on injecte dans l'intestin une certaine quantité de la solution physiologique afin d'obtenir un boudin encore flasque d'environ 4 à 5 cm de long. En général, une bulle d'air reste emprisonnée qu'il faut laisser en place pour assurer un minimum d'oxygénation. On retire ensuite doucement l'aiguille moussée en resserrant le nœud. On aura ainsi confectionné quatre sacs par cobaye.

c) *Lavage des sacs*: Les quatre sacs sont lavés simultanément par agitation, dans trois bains successifs de KREBS-HENSELEIT (30 ml environ à chaque fois) dans trois béchers pendant 15 secondes environ chaque fois.

Ce rinçage a pour but d'éliminer le plus possible, et de façon égale, dans les quatre sacs, le facteur intrinsèque propre à l'animal et qui pourrait être adsorbé à la surface de la muqueuse.

Chacun des sacs est ensuite transféré dans la fiole à incubation qui lui correspond.

d) *Incubation*: Chaque fiole est un Erlen de 50 ml avec rodage normalisé; le bouchon rodé laisse passer deux tubulures qui permettront le gazage des fioles. Ces tubulures sont fermées à l'aide de caoutchoucs sur lesquels sont fixés des pinces de Mohr. Le gaz servant à l'incubation est le mélange suivant: $O^2 = 95 \%$, $CO^2 = 5 \%$.

On laisse le gaz arriver pendant une dizaine de secondes dans les différentes fioles à l'aide d'une rampe.

Les fioles contenant donc le sac intestinal nageant dans le milieu d'incubation dont nous reverrons la composition et gazées, sont plongées, à l'aide de supports appropriés, dans un appareil de Warburg circulaire, maintenu à 37° . On branche l'agitation, d'amplitude: 3 à 4 cm, et de fréquence: 80 aller et retour par minute. On maintient l'incubation pendant une heure.

e) *Le liquide d'incubation*: Chacune des fioles contient 8 ml de liquide d'incubation, composée de :

- 4 ml d'une solution de KREBS-HENSELEIT double (1),
- 2 ml de la solution adéquate du suc gastrique à étudier,
- 1 cc de la solution de B₁₂ Co⁶⁰ (2),
- 1 cc d'eau distillée.

f) *Fin de l'opération et comptage*: Après l'heure d'incubation au Warburg à 37°, les fioles sont retirées de l'appareil. Chacun des sacs intestinaux est lavé trois fois de suite par 30 ml de solution KREBS-HENSELEIT à chaque fois, cela afin d'éliminer toute vitamine B₁₂ Co⁶⁰ non fixée

(1) La solution KREBS-HENSELEIT double est une solution deux fois plus concentrée dans tous ses éléments que la solution de KREBS-HENSELEIT classique dont voici la préparation (*Zeitschr. für physiol. chem.*, **210**, 1932, 36).

— 100 ml	d'une	solution	a
— 4 ml	—		b
— 3 ml	—		c
— 1 ml	—		d
— 1 ml	—		e
— 21 ml	—		f

150 ml de mélange

Gazer le mélange pendant 10 minutes en laissant perler le gaz (CO₂: 5 %, O₂: 95 %).

- Solutions: a) NaCl à 9 0/00 (0,154 M)
 b) K Cl à 1,15 % (0,154 M)
 c) Ca Cl à 1,22 % (0,11 M)
 anhydre pour analyses.
 d) K H² PO⁴ à 2,11 % (0,154 M)
 e) Mg SO⁴, 7 H²O à 3,82 % (1,154 M)
 f) Na H Co³ à 1,4 % (0,154 M)

Gazer la solution f) pendant une heure en faisant passer du CO₂ à gros bouillons.

(2) Vitamine B₁₂ radioactive Merck au 1/1000 titrant environ :

0,01 γ/ml
 0,06 μc/ml

Les quatre ml de KREBS-HENSELEIT double, entrant dans la composition de chaque fiole se trouvent dilués au 1/2 pour les 4 ml des autres composants qu'on suppose dissouts dans de l'eau distillée, en particulier en ce qui concerne le suc gastrique soumis à une dialyse contre de l'eau courante, puis de l'eau distillée pendant 16 heures afin de faire disparaître les sels qui s'y trouvent. La concentration saline finale se trouve être celle de la solution KREBS-HENSELEIT classique.

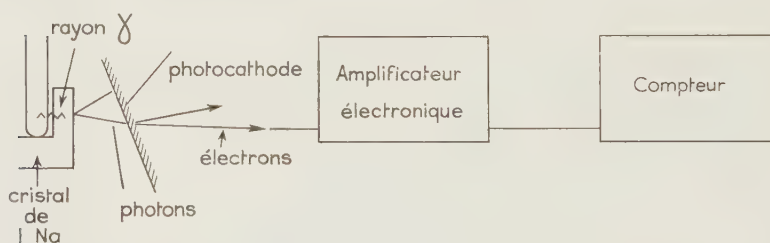
par l'intestin. Le sac est ensuite placé sur une lame de verre et son liquide intérieur ponctionné à la seringue avec une aiguille fine. Ce liquide est transféré dans un tube à essai et passé au compteur à scintillation, il ne doit pas contenir de radioactivité si l'intestin est resté vivant et intact.

Les deux ligatures sont éliminées par section aux ciseaux, et l'intestin est immédiatement compté au compteur à scintillation à cristal creux. Après comptage, l'intestin est étanché de l'excédent d'eau entre deux feuilles de papier Joseph et pesé à la balance à torsion. Nos segments d'intestin ont un poids compris entre 400 et 600 mg environ.

Le nombre de coups fixés, après déduction du mouvement propre de l'appareil est exprimé pour 100 mg de tissu frais.

Il convient de donner ici brièvement, la technique de comptage. L'emploi du compteur à scintillation a grandement favorisé les recherches sur la vitamine B₁₂ marquée au Co⁶⁰.

Voici un schéma du compteur à scintillation pour en expliquer le principe :



L'amplification possible du phénomène permet des mesures précises, même avec des doses traceuses. Mais le phénomène essentiel permettant l'emploi de ces compteurs est le fait que le Co⁶⁰ émet un rayonnement γ à forte énergie (1,2 Mev envir.) très pénétrant qui permet entre autre de pouvoir compter la radioactivité contenue dans un organe sans avoir à purifier celui-ci.

Le type de compteur que nous employons est un compteur « Nuclear Chicago » à cristal creux. On introduit

dans ce cristal, le tube contenant la source radioactive, celle-ci est donc entourée de toutes parts par le cristal, et tout le rayonnement émis sur les côtés et vers le bas est capté par le cristal qui donne un rendement élevé. Mais il faut, pour cela, que la source radioactive ne dépasse pas en hauteur le cristal; si cela arrive, il faut introduire une correction, puisque seul un certain pourcentage de la radioactivité réelle est captée. Nous avons établi une courbe du pourcentage recueilli en fonction de la hauteur (courbe 1).

Courbe I
Correction de la radioactivité recueillie
en fonction de la hauteur de la source dans le tube.



Nous devons toutefois rappeler que dans la technique exposée plus haut, l'intestin est petit et en aucun cas ne dépasse les 2 cm fixés comme la limite de mesure des 100 % de radioactivité.

g) *Récolte des sucs gastriques et leurs préparations:*
Aussi bien dans la méthode « In Vivo » que dans celle « In Vitro », les dosages ont porté sur les sucs gastriques recueillis après stimulation à l'histamine. La récolte est toujours faite dans les mêmes conditions dans un estomac

débarrassé de son liquide de stase. On injecte en intramusculaire, 0,25 mg de chlorhydrate d'histamine; cette injection est suivie du prélèvement de suc gastrique pendant une heure et demie. On mesure le pH et le volume du suc gastrique, on ramène le pH à 7,4 (qui est le pH de la solution KREBS-HENSELEIT).

Le suc gastrique est ensuite centrifugé (ultracentrifugeuse SPINCO); le liquide limpide surnageant est recueilli, dialysé, suivant les conditions décrites précédemment, dans des tubes Visking; le dosage se fera sur le liquide final.

Pour ne pas risquer de fausser les résultats, on évite, chez les sujets, toute thérapeutique vitaminique B₁₂ ou à base de facteur intrinsèque pendant au moins quarante-huit heures avant le prélèvement.

Si les sucs gastriques doivent être conservés quelques temps avant le dosage, ils sont stockés dans des fioles hermétiques à — 25° C. Nous avons vérifié que l'activité facteur intrinsèque se conserve ainsi plusieurs mois après leur neutralisation.

RÉSULTATS

Effet du facteur intrinsèque: Afin de comparer les effets du facteur intrinsèque d'un suc gastrique d'un sujet cliniquement normal à différentes dilutions, il fallait, en premier lieu, avoir une base, c'est-à-dire connaître les résultats obtenus avec cette technique en absence de facteur intrinsèque.

Absence de facteur intrinsèque: Dans ces expériences sans facteur intrinsèque et afin de maintenir par ailleurs toutes les conditions expérimentales, les deux ml de suc gastrique sont remplacés par 2 ml d'eau distillée. Chacune des fioles est alors composée comme suit:

4 ml	Krebs-Henseleit double,
1 ml	solution de vitamine B ₁₂ Co ⁶⁰ ,
3 ml	Eau distillée.
8 ml	

Le reste de la technique est absolument semblable à celle décrite plus haut; dans ces conditions les résultats obtenus sont les suivants:

Fixation de base de la vitamine B₁₂ Co⁶⁰
exprimée en coups/par/minute (c/p/m)
en absence de facteur intrinsèque

13 - 15 - 24 - 26 - 41 - 33 - 29 - 27 - 28 - 35

M = 27,1

σ = 8,5

σ % = 31 %

On remarque que la fixation de base, quoique faible (28 c/p/m sur un mouvement propre de 550) n'est pas négligeable; il semble donc que, même en absence de facteur intrinsèque, l'intestin du cobaye soit en mesure de fixer un peu de vitamine B₁₂. Ce résultat est-il dû à un résidu de facteur intrinsèque propre à l'animal et qui ne peut être éliminé totalement par le lavage? ou alors la vitamine B₁₂, à la concentration présente, peut-elle, en absence de facteur intrinsèque, pénétrer en partie dans la muqueuse intestinale? Nous verrons que ce point est discuté par certains auteurs.

Effet d'un suc gastrique normal. Effet de la dilution:

Le suc gastrique normal employé ici a été prélevé en clinique chirurgicale B chez M. Ser..., hospitalisé pour traumatisme des membres. C'est un sujet jeune, n'ayant aucun antécédent et ne présentant lors de son hospitalisation aucun syndrome digestif, hématologique ou nerveux.

Le tableau suivant montre l'effet de ce suc gastrique présent à différentes dilutions dans le liquide d'incubation (il faut rappeler que la dilution 1/10 représente 2 cc de suc gastrique dilué au 1/10, soit en réalité 0,2 cc de suc gastrique pur).

Courbe de fixation
donné par un suc gastrique normal

Dilution	1/10	1/20	1/40
—	—	—	—
	99	109	97
	109	99	100
	140	102	94
Fixation	123	133	90
	125	115	75
en	119	99	75
	188	101	78
c/p/m	193	87	75
	151	124	79
	166	107	71
Moyenne M	141,3	107,6	83,4
σ	32,5	13,4	10,7
$\sigma \%$	23	12,4	12,8

Les différences obtenues pour les moyennes sont statistiquement valables.

Effet de la vitamine B₁₂: Dans toutes ces expériences, la quantité de vitamine B₁₂ totale présente est bien supérieure au pouvoir de combinaison du suc gastrique. Il était tout de même intéressant de rechercher l'effet de concentration en vitamine B₁₂ et, en particulier en vitamine B₁₂ Co⁶⁰, sur la fixation de celle-ci par l'intestin.

Voici un tableau montrant l'effet de deux concentrations de vitamine B₁₂ en présence de la même concentration en facteur intrinsèque provenant d'une même source. La concentration au 1/100^e représente la vitamine B₁₂ Co⁶⁰ Merck au 1/100^e et dont on ajoute 1 ml par fiole, soit 10 mγ de vitamine B₁₂, ce qui est supérieur au pouvoir de combinaison des 0,2 ml de suc gastrique pur présents dans le milieu; dans la concentration au 1/50^e nous avons doublé le taux

de vitamine B₁₂, et si un effet de celle-ci devait se manifester sur les résultats, il aurait déjà lieu à ces concentrations.

Effet de la concentration en vitamine B₁₂
du milieu sur la fixation

Concentration de la vitamine B ₁₂ Co ⁶⁰ au 1/100 ^e		Concentration de la vitamine B ₁₂ Co ⁶⁰ au 1/50 ^e	
	—		—
	90		93
	85		104
	95		95
	70		68
	100		129
	131		117
	128		126
Moyenne	95		104
σ	22,7		21,5
σ %	23,8		20,6

L'effet de fixation accrue en présence de facteur intrinsèque n'est donc pas liée à la concentration en vitamine B₁₂. Dans la suite des opérations, nous avons, en conséquence, choisi la concentration au 1/100^e de la vitamine B₁₂.

Effet de la concentration saline du milieu d'incubation:
Lors des essais avec des concentrations élevées en facteur intrinsèque, nous avons constaté une baisse d'activité, c'est-à-dire une baisse de la fixation. Il ne s'agissait que d'un artéfact; en effet, nous ajoutions alors au milieu d'incubation les sels contenus dans le liquide gastrique, ainsi que des substances azotées (urée, etc...). Afin de les éliminer, nous avons systématiquement soumis les sucs gastriques à la dialyse, d'abord contre l'eau courante, une nuit, et ensuite 2 heures contre de l'eau distillée; l'artéfact a alors disparu comme le montrent les chiffres reproduits ci-après:

Fixation donnée par le suc gastrique SER...
avant et après dialyse

	Fixation donnée par un suc gastrique avant dialyse	Fixation donnée par le même après dialyse	
	—	—	
	78	99	109
	69	140	123
	74	125	119
	90	188	193
	61	151	166
Moyenne	74,4	141,3	
σ	10,8	32,5	
σ %	14,5	23	

Effet du prélèvement pour des cobayes différents: Pour un même produit à doser, toutes les conditions expérimentales étant par ailleurs identiques, la fixation de vitamine B₁₂ Co⁶⁰ diffère d'un animal à l'autre du fait des variations individuelles non réductibles: certains intestins sont très actifs, d'autres moins. Pour diminuer les erreurs dues à ces écarts individuels, nous pratiquons le dosage sur 10 animaux différents. Cela nous donne une série de 10 résultats dont nous prenons la moyenne ainsi que le σ (sigma = l'écart à la moyenne) et le σ %.

Chez le même cobaye: topographie intestinale: Nous avons dit dans la description de la technique que quatre sacs intestinaux étaient employés par cobaye. Ces quatre sacs ne sont pas utilisés pour doser un même suc gastrique, mais pour quatre sucs gastriques différents; de cette façon les 10 résultats obtenus pour un même suc gastrique proviennent bien de 10 animaux différents.

Mais afin de pouvoir comparer entre eux tous les résultats, il est nécessaire de montrer que les quatre morceaux d'intestins provenant d'un même prélèvement pouvaient donner, avec le même suc gastrique, des résultats identiques.

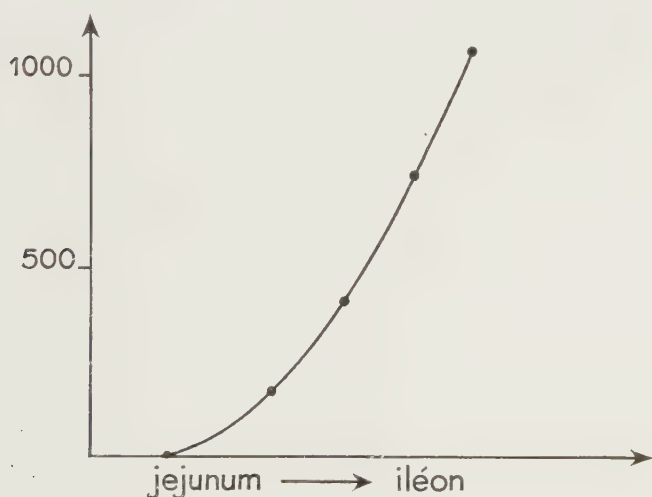
Voici quelques résultats :

Fixation sur les 4 morceaux d'intestin
provenant du même animal
avec le même suc gastrique

Nature et concentration —	Segment d'iléon n°				Moyenne —	σ —	σ % —
	1	2	3	4			
Suc gastrique humain	—	—	—	—	—	—	—
dilué au 1/20 ^e	61	75	69	73	69,5	6,2	8,9
id.	87	91	84	89	87,7	2,1	2,3
id.	66	55	64	53	59,5	6,4	10,7
Suc gastrique de rat	—	—	—	—	—	—	—
dilué au 1/50 ^e	52	52	58	46	52	4,9	9,4
id.	51	49	49	55	51	2,7	5,2
id. au 1/20 ^e	103	97	102	105	101,7	3,4	2,3

Ces quatre morceaux sont prélevés sur l'iléon de l'animal juste avant la jonction de celui-ci avec le cæcum. Certains auteurs ont, en effet, montré que la vitamine B₁₂ est absorbée chez l'homme (26) et chez le rat (26-27), surtout au niveau de l'iléon ; la même dose est démontrée pour le hamster et le cobaye par STRAUSS et WILSON (28).

Ces auteurs donnent une courbe de la fixation de la vita-



mine B12 en fonction de la localisation intestinale choisie.

On remarque que celle-ci est maximum au niveau de l'iléon; c'est ce qui a fait choisir cette portion de l'intestin pour les dosages.

Précautions lors des manipulations: Il convient de manipuler le plus rapidement possible afin que le minimum de temps s'écoule depuis la mort de l'animal jusqu'au commencement de l'incubation.

Les lavages se feront avec la solution de KREBS-HENSELEIT à température ambiante (18-20° C); en effet, si la solution est trop froide, (4° C) l'intestin est lésé.

Lorsque l'intestin est détérioré, soit par la manipulation, soit par les lavages, la muqueuse s'en détache; le liquide d'incubation devient alors trouble. A ce moment, la vitamine B12 libre pénètre à travers la muqueuse détruite vers l'intérieur du sac et le liquide contenu dans ce dernier devient radioactif.

Le liquide intérieur doit donc, dans les conditions normales, être exempt de radioactivité.

DOSAGE

Courbe de référence: On peut conclure de ce qui précède que, chaque chiffre représente, non pas une concentration réelle en « facteur intrinsèque », mais plutôt une valeur que nous appellerons « Activité en facteur intrinsèque », exprimée en c/p/m fixés dans 100 mg de tissu. Les valeurs de référence sont constituées par la courbe qui relie les points indiquant la fixation en fonction des différentes dilutions que permet le mélange standard de 10 sucs gastriques de sujets normaux.

Choix des sujets normaux: Cliniquement, ces sujets étaient, pour la plupart, des traumatisés accidentels, adultes d'âge moyen entre 25 et 40 ans, ne présentant aucune autre affection au moment du prélèvement et n'ayant eu aucun antécédent pouvant affecter la sécrétion gastrique.

La normalité des 10 sucs gastriques avait été vérifiée par notre méthode employant le segment intestinal « in vivo » chez le cobaye. Nous en redonnons les résultats (29), dans le tableau qui suit.

Elaboration de la courbe: Nous avons mélangé les 10 sucs gastriques normaux et la courbe de référence a été faite grâce à ce mélange standard (72). Les résultats obtenus sont rapportés dans un tableau et la courbe qui en résulte, dressée sur un graphique. On porte en abscisse la fixation exprimée en c/p/m pour 100 mg de tissu frais, et en ordonnée les dilutions du suc gastrique, mais de façon à avoir une échelle logarithmique, la courbe est ainsi représentée par une droite ascendante au début, puis par un plateau horizontal.

Dilution d'un mélange de sucs gastriques

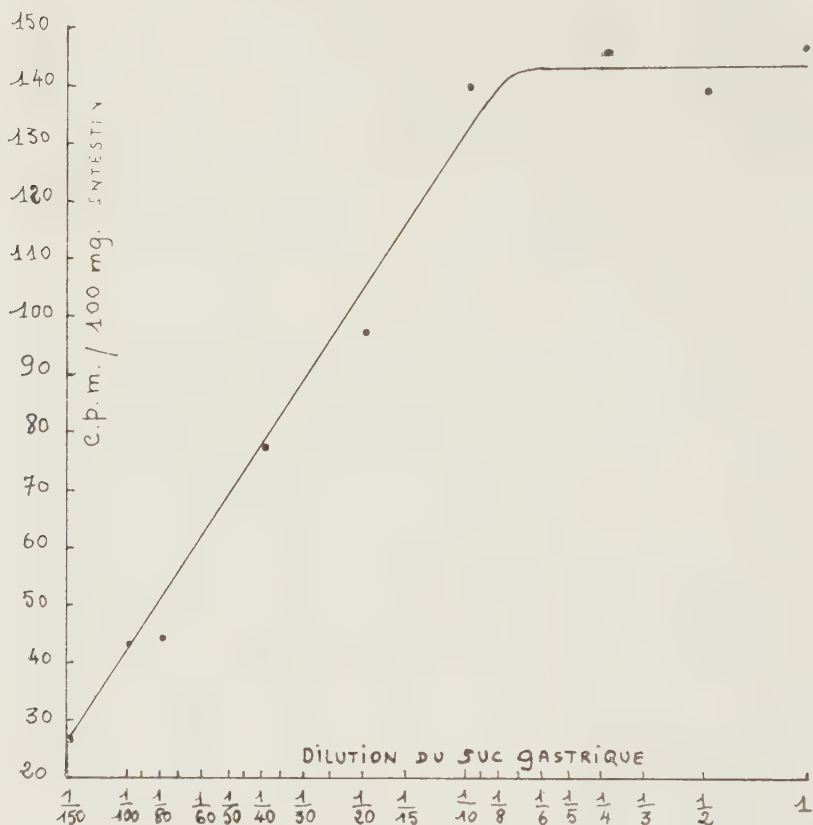
	pur	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{150}$	0
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	127	147	177	165	108	118	53	42	35	13
	185	177	156	126	117	63	61	58	19	15
	165	147	111	108	104	82	58	44	22	24
	195	196	166	137	130	67	74	53	34	26
	139	139	199	142	120	80	31	39	—	41
	152	164	189	163	94	90	43	48	18	33
	173	106	121	156	71	74	27	58	21	29
	101	94	134	135	78	80	24	36	38	27
	121	—	114	161	70	47	47	30	27	28
	109	80	85	99	75	71	25	25	43	35
anne	146,7	138,8	145,2	139,2	96,7	77,2	44,3	43,3	28,5	27,1
...	32,4	38,8	37,8	23,1	22,2	16,3	17,3	11,2	9,2	8,5
...	22	27,9	26	16,5	22,9	21,1	39,3	25,8	32,2	31

Fixation intestinale de B12 Co⁶⁰ en c/p/m pour 100 mg de tissu sous l'effet de dilutions croissantes d'un suc gastrique standard.
(Voir le texte)

On peut conclure de cette courbe que :

la fixation varie proportionnellement au logarithme de la dilution, entre la dilution au $1/150^e$ et celle au $1/7^e$;

pour des concentrations de facteur intrinsèque supérieures à celles représentées par la dilution au $1/7^e$, l'in-



Fixation intestinale de vitamine B12 CO⁶⁰
en fonction de la concentration en suc gastrique normal
(mélange standard).

testin, bien qu'ayant de la vitamine B12 en excès, à sa disposition, ne fixe plus celle-ci d'où il en résulte un plateau.

Ce résultat a d'ailleurs déjà été observé par différents auteurs comme nous aurons l'occasion de le voir plus loin.

Détermination de l'activité en « facteur intrinsèque » d'un suc gastrique inconnu: Cette détermination consiste à faire d'abord, avec le suc gastrique à doser, prélevé et préparé suivant les conditions que nous avons décrites plus haut, un essai d'orientation.

Pour cela, on fait incuber quatre morceaux d'intestin provenant du même cobaye avec des dilutions croissantes du suc gastrique à étudier; nous utilisons pour cette orientation les concentrations suivantes: pur, $1/4^{\circ}$, $1/16^{\circ}$, $1/64^{\circ}$ en général. Nous choisissons alors la dilution qui a permis une fixation moyenne (entre 60 et 120 c/p/m) de $B_{12} Co^{60}$, et nous faisons avec cette même dilution le dosage, c'est-à-dire la moyenne des 10 résultats obtenus chez 10 cobayes différents.

On rapporte les résultats sur la courbe de référence, et on détermine à quelle dilution de l'étalon correspond la fixation obtenue avec la dilution du suc gastrique; le rapport de la dilution réelle du suc gastrique à la dilution donnée par la courbe sera l'activité en « facteur intrinsèque » du suc gastrique à doser: on dira que tel suc gastrique est x fois plus actif ou moins actif qu'un suc gastrique normal.

Exemple: Suc gastrique de M. DUVE...

Essai d'orientation:

Pur,	donne une fixation de	174 c/p/m/100 mg			
$1/4^{\circ}$,	»	»	de 179	»	»
$1/16^{\circ}$,	»	»	de 64	»	»
$1/64^{\circ}$,	»	»	de 29	»	»

Dosage sur la dilution au $1/16^{\circ}$:

$$64 - 34 - 50 - 50 - 52 - 47 - 38 - 34 - 66 - 50$$
$$M = 48,5 \qquad \sigma = 11$$

Sur la courbe, la dilution au $1/88^{\circ}$ de l'étalon permet une fixation de 48,5 c/p/m environ.

88

Le suc gastrique est donc: $\frac{88}{16} = 5,5$ fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

Toutes nos valeurs seront ainsi exprimées en fonction du suc gastrique normal.

Autres méthodes

Il ne convient pas de discuter ici les avantages et les inconvénients de la méthode que nous venons de décrire; nous devons pourtant dire qu'elle a les incertitudes des méthodes biologiques. Nous pensons que l'évolution aboutira, dans le domaine du facteur intrinsèque, soit à un dosage chimique (colorimétrique ou enzymatique), soit physico-chimique: peut-être électrophorétique.

Dans ce domaines d'ailleurs, des approches ont été faites par différents auteurs. C'est ainsi que BARLOW et FREDERICK (30) des Laboratoires Abbott, N. Chicago, Illinois, ont décrit une méthode basée sur la mesure de la radioactivité liée au facteur intrinsèque et qui se localiserait, après une électrophorèse convenable, à un certain endroit de l'électrophorégramme. Les auteurs n'ont pas essayé la méthode en clinique, mais il est certain que dans les conditions observées, le facteur intrinsèque humain ne migrerait pas au même endroit. Tout récemment, GLASS (31) pratiquant également des électrophorèses mais dans des conditions tout à fait différentes de celles de BARLOW trouve des composants protéiniques présents en quantités variables dans des sucs gastriques de sujets normaux et de sujets achlorhydriques, mais ayant une absorption intestinale de vitamine B₁₂ normale, et absents chez les sujets atteints d'anémie de Biermer. Mais il ne précise pas si cette méthode peut être la base d'un dosage quantitatif du facteur intrinsèque en clinique humaine d'une façon générale.

Il faudrait essayer dans cette voie, à moins que l'immunoélectrophorèse ne donne la clef.

PHYSIOLOGIE

DU FACTEUR INTRINSÈQUE

Nous allons insérer dans cette partie un premier chapitre qui n'est pas proprement de la physiologie, mais dont la connaissance est, nous le croyons, nécessaire à la suite de l'exposé.

Un second chapitre sera consacré aux propriétés physiologiques (rôle, sécrétion, mode d'action, etc...) du facteur intrinsèque; et nous étudierons dans un troisième chapitre, le facteur intrinsèque chez les sujets normaux en fonction de l'âge.

Propriétés physicochimiques du facteur intrinsèque et nature

Il n'est pas dans nos intentions de faire ici une étude complète que ce que l'on sait sur les propriétés physicochimiques du facteur intrinsèque. Il faut cependant rapidement résumer ces connaissances de façon à situer exactement le problème, avant d'aborder la physiologie et la pathologie du facteur intrinsèque.

Malgré les nombreuses tentatives faites jusqu'à ce jour, et que nous évoquerons plus tard, on n'a pu obtenir jusqu'à présent une préparation pure de facteur intrinsèque. Aussi l'état de nos connaissances sur les propriétés physicochimiques de celui-ci repose-t-il essentiellement sur des résultats expérimentaux obtenus avec des préparations impures

et souvent même avec le suc gastrique lui-même ou un extrait aqueux de muqueuse gastrique purifié ou brut. Les résultats n'ont en conséquence qu'une valeur limitée et ils sont sujet à révision.

Les premières recherches de CASTLE avaient déjà permis de conclure à la nature protéinique et même enzymatique du facteur intrinsèque: molécule adialysable et non ultrafiltrable, alcali-stable, résistant au pH pendant 20 minutes, thermolabile, détruite par certains enzymes protéolytiques.

Nous avons constaté ces différentes propriétés: la nature adialysable et non ultrafiltrable ne fait aucun doute puisque après la dialyse du suc gastrique pendant 16 heures contre l'eau courante, l'activité se conserve intacte; de plus l'ultrafiltration permet de mesurer le pouvoir de combinaison d'un suc gastrique du fait que si la vitamine B₁₂ libre passe à travers la membrane, la combinaison de cette vitamine B₁₂ avec le facteur intrinsèque ne passe pas. Nous avons, M. le Professeur WOLFF et nous-même, donné une méthode de mesure du pouvoir de combinaison basé sur cette propriété (32).

La stabilité aux pH alcalins voisins de 10 permet aux auteurs d'obtenir des sucs gastriques et extraits gastriques exempts de pepsine, car celle-ci est détruite à ces pH; cela est important pour les purifications ultérieures et la conservation du facteur intrinsèque.

La thermolabilité est également certaine en ce qui concerne le suc gastrique humain: dilué au 1/20^e ce dernier permet une fixation de 96,7 c/p/m/100 mg d'intestin frais, ce même suc gastrique, à la même dilution, porté au bain-marie bouillant pendant 5 minutes n'a plus aucune activité, puisque la fixation n'est plus que de 17 c/p/m/100 mg d'intestin.

Quant à l'action des enzymes protéolytiques sur le facteur intrinsèque, les avis des auteurs sont partagés sur ce sujet. La plupart des auteurs admettent actuellement que la pepsine détruit, en partie, le facteur intrinsèque (33).

Nous devons toutefois dire que nous avons conservé à température ordinaire, sous toluène, pour empêcher l'invasion microbienne, un suc gastrique normal à pH: 1,5 sans avoir détruit auparavant la pepsine. Voici les résultats:

Suc gastrique normal au 1/20° donne une fixation de 97,7 c/p/m/100 mg.

Après conservation de 8 jours, la fixation est de 90 c/p/m/100 mg.

Nous concluons que si la pepsine a une action, celle-ci est lente et faible. Il semble d'ailleurs que la combinaison: B12 plus facteur intrinsèque, soit moins attaquée par les enzymes que le facteur intrinsèque seul.

Une incubation de 16 heures à 37° d'un suc gastrique normal porte à pH: 7,4, en présence de trypsine n'altère pas son activité en facteur intrinsèque.

Nous n'avons pas essayé les chymotrypsines, ni la papaïne: les auteurs admettent actuellement que la chymotrypsine détruit le facteur intrinsèque et que la papaïne (de même que la tyrosinase) n'a aucune action.

Des recherches plus récentes ont montré que certains inhibiteurs spécifiques de groupes, tels que le fluorodinitrobenzène détruisent son activité alors que ceux, agissant sur les groupements SH- ou SH² sont sans effet.

En ce qui concerne la structure du facteur intrinsèque, de nombreux auteurs se sont attachés à purifier ce produit. Il n'entre pas dans notre propos de décrire en détail les innombrables méthodes qui ont été recommandées dans ce but; elles ont principalement fait appel au relargage par les sels et, en particulier, par le sulfate d'ammonium, la chromatographie sur colonne de gel d'amidon ou autre, la précipitation par les solvants organiques, l'électrophorèse, etc...

Ces méthodes entre les mains de WILLIAMS et ELLENBOGEN (16), de LATNER (17) et collaborateurs ont permis d'obtenir des fractions actives à la dose de 0,35 à 0,5 mg.

Il existe cependant une assez grande incertitude quant à la nature chimique du facteur intrinsèque, mais on est d'accord pour le considérer, soit comme une mucoprotéine de

poids moléculaire de 15 000 (LATNER), soit comme un mucopolypeptide de poids moléculaire 5 000 à 10 000 (WILLIAMS et ELLENBOGEN). Lors de préparations hautement purifiées, les auteurs ont pu déceler dans les produits d'hydrolyse totale de l'hexosamine, du Fucose, du Galactose, de la Tyrosine et du Tryptophane, mais dans les proportions différentes selon les chercheurs.

Dans toutes ces recherches, le fil d'Ariane qui, le plus souvent, a guidé les auteurs, a été l'isolement d'un complexe (facteur intrinsèque + B₁₂); ce qui a nécessairement amené les auteurs, soit à isoler avec les fractions actives les fractions inactives, soit à abandonner en cours de route des fractions actives. Or, nous verrons combien le pouvoir de combinaison n'est pas le fait propre du facteur intrinsèque. Tout cela a empêché que la structure du facteur intrinsèque ne soit connue actuellement.

Récemment, GLASS (34), se basant sur ce que l'on sait des propriétés physicochimiques et physiologiques du facteur intrinsèque a proposé la théorie suivante: le facteur intrinsèque serait une petite molécule peptidique sécrétée par les glandes fundiques chez l'homme. Ce peptide contiendrait 2 groupes (ou chaînes) réactifs. Le premier groupe, appelé par GLASS « Groupe à pouvoir de combinaison », serait, comme son nom l'indique, le groupe permettant à la vitamine B₁₂ de se combiner spécifiquement au facteur intrinsèque; il serait thermolabile, attaquable par les enzymes protéolytiques. Le second groupe serait la chaîne qui donnerait au facteur intrinsèque son pouvoir de faire passer la vitamine B₁₂ à travers l'intestin, sans doute en entrant en combinaison spécifique avec un accepteur. Les deux chaînes intactes seraient nécessaires au pouvoir du facteur intrinsèque.

En présence de la pepsine d'un suc gastrique normal, le facteur intrinsèque voit sa « chaîne à pouvoir de combinaison » altérée, ce qui modifie en partie à la fois son aptitude à faire passer la vitamine B₁₂ à travers l'intestin et ses propriétés physicochimiques (il devient chargé négativement).

tivement). Si cette chaîne est combinée à la vitamine B₁₂, elle est protégée des enzymes; d'après l'auteur, d'ailleurs, cette petite molécule peptidique qui est le facteur intrinsèque, pourrait passer à travers l'intestin avec la vitamine B₁₂, puis dans le sang.

Nous le constatons, la physiologie du facteur intrinsèque est étroitement liée à sa nature.

Propriétés physiologiques du facteur intrinsèque

Dans ce paragraphe, nous étudierons successivement le lieu de sécrétion du facteur intrinsèque et celui de son action physiologique en développant brièvement les théories du mode d'action de ce facteur émises à ce sujet. Nous aurons au cours de cet exposé l'occasion d'envisager une propriété du facteur intrinsèque qui a donné lieu à de nombreuses controverses, et qui est le pouvoir de combinaison du facteur intrinsèque avec la vitamine B₁₂.

LIEU DE SÉCRÉTION DU FACTEUR INTRINSÈQUE

La question est actuellement très controversée, quant à savoir quelles cellules sécrètent le facteur intrinsèque; mais l'on sait actuellement avec certitude dans quelle région de l'estomac il est élaboré. Les études ont porté sur le porc et sur l'homme principalement.

Chez le porc, l'activité facteur intrinsèque est surtout présente dans les régions pyloriques et cardiales, alors qu'elle est absente dans la région fundique où s'effectue la sécrétion de pepsine.

Chez l'homme, au contraire, on retrouve une activité maxima au niveau de la zone fundique (comme d'ailleurs chez le rat). Cette région est d'ailleurs la première région à être atteinte par l'atrophie lors de l'anémie de Biermer, alors que la région antrale est rarement atrophiée.

Des études comparées de la répartition des cellules argentaffines chez l'homme et chez le porc ne sont pas en faveur d'un rôle quelconque de ces cellules dans la génèse du facteur intrinsèque. Ces données sont d'ailleurs confirmées par des études sur les effets de la gastrectomie subtotale chez l'homme.

Une théorie à laquelle s'était ralliée l'opinion de plusieurs auteurs attribuait la sécrétion du facteur intrinsèque aux cellules muqueuses du col des glandes fundiques (15).

Mais tout récemment, NIEWEG, ARENDS et collaborateurs rapportent une expérience sur l'autoradiographie de coupes d'estomac incubées auparavant pendant 10 minutes à 4° C avec de la vitamine B₁₂ Co⁶⁰ et où il retrouve la radioactivité localisée principalement dans la partie basale des glandes du fundus (36).

Il est absolument certain que cette question n'est encore pas résolue définitivement.

LIEU ET MODE D'ACTION DU FACTEUR INTRINSÈQUE

On est actuellement d'accord pour admettre que le facteur intrinsèque facilite d'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ au niveau de l'iléon. Son mode d'action a fait l'objet de plusieurs théories que nous allons rapidement passer en revue :

Mentionnons pour mémoire la théorie de l'interaction entre le facteur intrinsèque et le facteur extrinsèque pour donner le *facteur antipernicieux*, énoncée pour la première fois par CASTLE et TOWNSEND, en 1929. Elle a été abandonnée à la suite de la découverte de la vitamine B₁₂ en 1948, de l'identité chimique entre le facteur extrinsèque, le facteur antipernicieux et la vitamine B₁₂.

Théorie de la combinaison du facteur intrinsèque avec la vitamine B₁₂. TERNBERG et EAKIN, en 1949, ont les premiers montré que le suc gastrique chez l'homme contient un facteur thermolabile qui se combine à la vitamine B₁₂.

L'existence d'une telle combinaison a été démontrée sans aucun doute possible; malheureusement, ce pouvoir de combinaison présente un caractère ambigu, car ce qui apparaît suivant une méthode comme étant de la vitamine B₁₂ libre, se présente suivant une autre méthode comme de la vitamine B₁₂ combinée.

Quoiqu'il en soit, les méthodes de mesure de cette fraction combinée repose sur les principes suivants:

la combinaison de la vitamine B₁₂ avec le facteur intrinsèque qui est une molécule protéinique relativement grosse, rend cette vitamine adialysable et non ultrafiltrable. La mesure, par ce procédé, de la vitamine combinée est cependant délicate en raison de l'absorption partielle de la vitamine libre dans la paroi de l'ultrafiltre. Nous avons, dans un précédent travail, indiqué une méthode pratique pour mesurer par cette méthode la vitamine B₁₂ combinée (32);

par sa combinaison avec le facteur intrinsèque, la vitamine B₁₂ a certaines de ses propriétés biologiques altérées; sous sa forme combinée, elle perd son aptitude à assurer la croissance de microorganismes pour lesquels elle constitue à l'état libre un facteur de croissance indispensable (telles certaines souches *Lactobacillus Leichmanii* et certains mutants du colibacille);

les travaux de DAVIS et CHOW (37) ont montré qu'une suspension de *Lactobacillus Leichmanii* est susceptible d'absorber des taux importants de vitamine B₁₂ si celle-ci est à l'état libre. En se basant sur ces propriétés, le Professeur WOLFF a mis au point une technique microbiologique de dosage de la vitamine B₁₂ libre et combinée (38).

Par électrophorèse et par chromatographie sur papier, on observe des migrations différentes de vitamine B₁₂ libres et combinées. Ces principes ont été mis à profit pour mesurer dans un milieu les éléments suivants: vitamine B₁₂ libre - vitamine B₁₂ combinée - capacité de combinaison d'une solution avec la vitamine B₁₂. L'intérêt de la mesure de ces données réside dans le fait que pour de nom-

breux auteurs, il y a parallélisme entre l'aptitude du suc gastrique à assurer le passage de la vitamine B₁₂ à travers l'intestin et son pouvoir de combinaison. Cette théorie présente cependant des lacunes.

Arguments en faveur de cette théorie:

Le pouvoir de combinaison est au même titre que l'activité facteur intrinsèque dû à de grosses molécules thermostables, alcalistables, de nature protéinique.

Tous les échantillons de facteur intrinsèque purifiés obtenus jusqu'à présent possèdent un certain pouvoir de combinaison.

Le pouvoir de combinaison et l'activité facteur intrinsèque peuvent être localisés aux mêmes endroits dans les estomacs de différentes espèces animales.

Pour plusieurs échantillons de facteur intrinsèque, l'activité biologique varie parallèlement au pouvoir de combinaison. D'ailleurs, l'isolement d'une combinaison vitamine B₁₂ - facteur intrinsèque a conduit à la préparation d'échantillons hautement actifs.

Enfin, les deux principes se comportent de façon identique à l'égard des enzymes et de différents inhibiteurs.

A ces arguments s'opposent d'autres arguments non moins convaincants.

Arguments contre cette théorie:

Par purification de certains protides, on obtient des dérivés à pouvoir de combinaison élevé, mais dénués de toute activité biologique: sérum - larmes - lait - hémoglobine.

Inversement, un échantillon de facteur intrinsèque très actif mais de pouvoir de combinaison bas a été préparé par WILLIAMS et ses collaborateurs (16).

En conclusion, le suc gastrique semble contenir, en plus du facteur intrinsèque, de nombreuses autres substances qui déterminent son pouvoir de combinaison élevé, et il n'est pas surprenant que l'élimination de ces substances en même temps qu'elle fait baisser le pouvoir de combinaison, augmente l'activité biologique du suc gastrique.

Théorie de l'action catalytique du facteur intrinsèque
envers l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂:

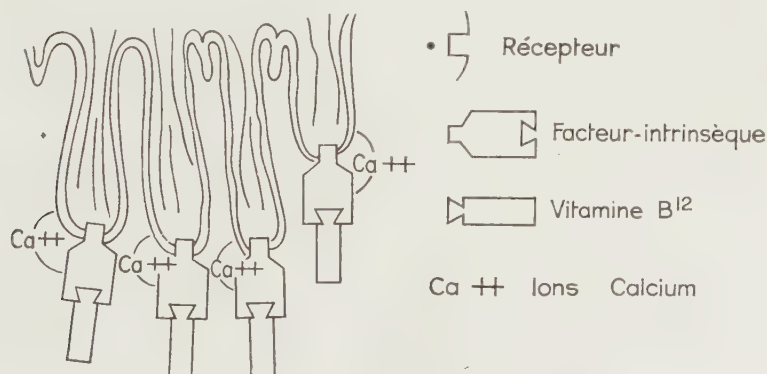
Les recherches de CASTLE et NIEWEG ayant montré que la fixation intestinale de la vitamine B₁₂ était augmentée en présence de facteur intrinsèque, il semble actuellement démontré que le facteur intrinsèque exerce son action au niveau de l'intestin en agissant comme catalyseur de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂.

Quel que soit le mécanisme intime de cette absorption, il semble prouvé actuellement que la vitamine B₁₂ est cédée grâce au facteur intrinsèque à un accepteur intracellulaire, étape obligatoire dans l'absorption et le transport de la vitamine B₁₂ dans l'intestin et de l'intestin vers le foie. Cette absorption nécessite la présence d'oxygène puisqu'en anaérobiose, elle n'a pas lieu, comme nous le montre nos résultats « in vitro », mais en atmosphère d'azote:

action d'un suc gastrique en aérobiose: 141,3 c/p/m/
100 mg tissu;

action de même suc gastrique en anaérobiose: 20,4 c/
p/m tissu ainsi que la présence d'ion Ca⁺⁺, car l'adminis-
tration d'un complexe chélateur des ions Ca⁺⁺, inhibe l'ac-
tion du facteur intrinsèque.

HERBERT propose un schéma qui, s'il n'est qu'imagi-
nation, retrace bien la théorie (40):



Les recherches sur l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ radioactive, en fonction de la dose de facteur intrinsèque, démontrent qu'un stade de saturation est rapidement atteint, et que le mécanisme d'absorption de B₁₂ de l'intestin s'épuise assez rapidement pour atteindre l'état du bloc muqueux ne laissant plus passer la vitamine B₁₂, de façon analogue au mécanisme qui règle et limite l'absorption intestinale du fer. A ce moment, et suivant le schéma d'HERBERT, tous les récepteurs sont occupés; la courbe que nous avons tracée plus haut montre bien ce bloc muqueux puisqu'il existe un palier à partir de la dilution du 1/6^e.

Mais quoiqu'il en soit, il semble bien qu'une combinaison entre vitamine B₁₂ et facteur intrinsèque soit nécessaire, ainsi que l'ont montré les recherches de SCHILLING. Il est évident que la plus grande partie de la vitamine B₁₂ que nous ingérons dans les conditions physiologiques est déjà combinée à des protéines diverses; il semble que le facteur intrinsèque soit susceptible de capter à son profit électivement, cette vitamine B₁₂ combinée, aidé en cela par un pH acide tel qu'il existe dans l'estomac, et la présence de pepsine qui attaquerait en partie les protéines ingérées.

Dans ces dernières années, CASTLE (39) a repris l'étude du problème de la cession de la vitamine B₁₂ à la cellule intestinale. Il résulte que ses travaux que le complexe (facteur intrinsèque + B₁₂) est hydrolysé par voie enzymatique dans la cellule intestinale, la vitamine B₁₂ est ainsi libérée et transférée dans le sang de la veine porte. Au niveau de cette réaction enzymatique une spécificité d'espèce aurait été mise en évidence; le facteur intrinsèque, lui, semble rejeté dans la lumière intestinale d'où il est facilement éliminé par lavage.

Cependant, pour certains auteurs, le rôle du facteur intrinsèque s'étendrait au foie et à la moelle osseuse. Cette action intérieure, contrairement à l'action intestinale, serait dénuée de toute spécificité d'espèce.

En ce qui concerne le foie, MILLER (40) et collaborateurs ont montré, dans ces dernières années, que des coupes de foie de rat mises en contact avec de la vitamine B₁₂ Co⁶⁰ en présence de facteur intrinsèque de porc étaient susceptibles de fixer la vitamine à un taux qui était fonction du taux de facteur intrinsèque présent. Tout récemment, TOPOREK (41) a montré, à l'aide de foies de rats isolés et perfusés, que le facteur intrinsèque pourrait passer dans la bile, après être passé dans le foie et que, dans ces conditions, la bile avait une activité facteur intrinsèque.

D'autre part, dès 1951, CALLENDER et LAJTHA (42) ont démontré, sur des cultures de moelle osseuse en provenance de Biermériens, un effet nettement positif sur la naturation des mégakaryoblastes de la présence de suc gastrique. Il faut cependant faire remarquer que, jusqu'à présent, aucun effet stimulant n'a pu être observé « in vivo » avec du suc gastrique administré par injection à des sujets recevant par ailleurs de la vitamine B₁₂ en injection (43).

Nous renvoyons à la fin du chapitre précédent sur la nature du facteur intrinsèque et plus spécialement à l'exposé de la théorie récente de GLASS qui pense que le facteur intrinsèque est une petite molécule susceptible de passer à travers l'intestin vers le sang et le foie.

AUTRES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DUES A LA NATURE DU FACTEUR INTRINSÈQUE

Nous voudrions, ici, faire un court paragraphe sur la spécificité du facteur intrinsèque et sur sa nature antigénique, propriétés toutes deux dépendantes de sa structure et de sa nature protéinique.

La question s'était évidemment posée aux cliniciens pour le traitement oral de l'anémie pernicieuse. Après la mise en évidence par CASTLE du facteur intrinsèque, ce traite-

ment oral consistait surtout à donner au sujet malade, un repas de viande mélangé à un suc gastrique normal prélevé chez un sujet non biermérien. Rapidement cependant, STURGIS et ISAACS (44) notèrent que l'estomac de porc contenait des substances à activité indiscutable en facteur intrinsèque. Depuis, cette découverte a été confirmée et différentes firmes se sont attachées à purifier cette ou ces substances. Mais des expériences, portant sur le rat, montraient que ces produits issus du porc n'avaient aucune action sur cet animal, de même d'ailleurs que des extraits d'estomacs de rats étaient inactifs chez l'homme et que le suc gastrique de l'homme était inactif chez le rat gastrectomisé; ces spécificités d'espèces ont d'ailleurs empêché les auteurs d'utiliser le rat entier comme animal pratique de laboratoire, à moins d'employer le suc gastrique de rat lui-même.

En employant la méthode des sacs intestinaux retournés *in vitro*, WILSON et STRAUSS (45) montrent l'existence de spécificités d'action de différents facteurs intrinsèques sur des intestins d'animaux différents. C'est ainsi que l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ par l'intestin de rat n'est stimulée que par son propre facteur intrinsèque. A l'inverse, l'iléon de cobaye répond à tous les facteurs intrinsèques testés; cobaye, rat, porc, hamster, homme et lapin. Les intestins de hamster et de lapin sont intermédiaires et ne répondent qu'à quelques-uns des facteurs intrinsèques.

La faculté du facteur intrinsèque de porc d'être actif chez l'homme est à la base de préparations actives chez le biermérien, cependant, ce traitement n'est encore pas au point puisque le malade doit absorber le produit toute sa vie durant et que très rapidement — après une seule dose chez certains sujets (44 bis) — naît un état réfractaire où le produit n'a plus d'activité.

D'après SCHWARTZ, la cause de cette perte d'activité est le développement d'une résistance au facteur intrinsèque,

sans doute par immunisation envers ce facteur intrinsèque. Il retrouve d'ailleurs dans le sérum de la plupart des sujets traités oralement une substance inhibant l'activité facteur intrinsèque du produit oral; le sérum de sujets normaux et des sujets non traités oralement ne présentent pas une telle substance (46). Récemment, ce même auteur rapporte que cette résistance peut durer de longues années, qu'elle peut également disparaître chez certains sujets, mais réapparaître rapidement (47). Cela fait penser à un phénomène d'immunité. En 1958 d'ailleurs, TAYLOR et MORTON rapportent la production d'anticorps antifacteur intrinsèque humain et de porc chez le lapin (48).

Cependant, cette théorie de production d'anticorps n'est pas admise par tout le monde et dans un récent travail NIEWEG et ses collaborateurs, en étudiant un groupe de 22 sujets atteints d'anémie pernicieuse, qui n'avaient pas été traités par du facteur intrinsèque, rapportent que 9 de ces sujets possédaient dans leurs sérums une substance capable d'inhiber complètement l'effet d'un suc gastrique normal (effet mesuré par le test de SCHILLING); l'inhibiteur était stable au chauffage à 56° C pendant 30 minutes, mais détruit par une minute à 90° C. L'auteur pose alors la question de savoir si certains cas d'anémie pernicieuse ou plus exactement de mégaloblastose guéris par la vitaminothérapie B₁₂ ne sont pas tout compte fait des maladies d'auto-immunité (49).

AUTRES FACTEURS INHIBITEURS

D'autres inhibiteurs du facteur intrinsèque ont été mis en évidence; c'est ainsi que certains auteurs prétendent que du facteur intrinsèque (en l'occurrence un suc gastrique normal) administré en trop grande quantité à un sujet biernérien inhibe l'absorption de la vitamine B₁₂.

La présence de ce facteur inhibiteur a été démontrée dans un cas d'anémie de Biermer (50). Les auteurs ont suivi le

sujet pendant 25 ans, le suc gastrique de ce sujet contenait une substance capable d'inhiber totalement l'action d'un suc gastrique normal chez un Biermérien normalement sensible à ce suc gastrique lorsqu'il était administré seul.

Nous avons, avec M. le Professeur WOLFF, repris la question (73) en employant la méthode de dosage décrite dans ce travail. Les résultats ne sont pas encore assez nombreux pour pouvoir former la base d'une nouvelle théorie, mais on peut conclure de ces recherches que certains échantillons de suc gastrique de Biermériens sont doués d'un pouvoir inhibiteur tel, qu'ils empêchent l'effet fixateur de B12 sur une muqueuse intestinale de cobaye, exercée par un suc gastrique normal. Cet effet inhibiteur peut être dû à la présence de constituants diffusibles dans ces sucs gastriques, et dans ces cas n'existe plus dans les sucs gastriques dialysés. Mais, chez certains sujets, malgré la dialyse, le pouvoir inhibiteur persiste et il semble alors que le problème des facteurs responsables de l'anémie pernicieuse présente un aspect infiniment plus complexe que ne le laissait prévoir la théorie classique de CASTLE.

Les sucs gastriques dits normaux, ne sont eux-mêmes peut-être qu'un équilibre entre facteur intrinsèque et facteurs inhibiteurs. Nous aurons d'ailleurs l'occasion de revenir sur cette notion.

Le facteur intrinsèque en fonction de l'âge chez le sujet normal

LE FACTEUR INTRINSÈQUE CHEZ L'ADULTE NORMAL

Il serait plus normal de commencer le chapitre traitant du facteur intrinsèque chez le sujet normal en fonction de l'âge par l'enfance, mais nous tenons à rappeler ici nos résultats chez l'adulte normal puisque la courbe obtenue avec le suc gastrique de tels sujets est et sera notre courbe de

référence pour tous nos résultats autres. Nous reproduirons ici nos résultats chez ces sujets pour pouvoir nous y référer facilement :

Dilution d'un mélange de sucs gastriques

	pur	1 — 2	1 — 4	1 — 10	1 — 20	1 — 40	1 — 80	1 — 100	1 — 150	0 —
127	147	177	165	108	118	53	42	35	13	
185	177	156	126	117	63	61	58	19	15	
165	147	111	108	104	82	58	44	22	24	
195	196	166	137	130	67	74	53	34	26	
139	139	199	142	120	80	31	39	—	41	
152	164	189	163	94	90	43	48	18	33	
173	106	121	156	71	74	27	58	21	29	
101	94	134	135	78	80	24	36	38	27	
121	—	114	161	70	47	47	30	27	28	
109	80	85	99	75	71	25	25	43	35	
Moyenne	146,7	138,8	145,2	139,2	96,7	77,2	44,3	43,3	28,5	27,1
±	32,4	38,8	37,8	23,1	22,2	16,3	17,3	11,2	9,2	8,5
± % ...	22	27,9	26	16,5	22,9	21,1	39,3	25,8	32,2	31

Fixation intestinale de B12 Co⁶⁰ en c/p/m pour 100 mg de tissu sous l'effet de dilutions croissantes d'un suc gastrique standard.
(Voir le texte)

LE FACTEUR INTRINSÈQUE CHEZ L'ENFANT NORMAL

La littérature ne fournit pas de données sur le taux du facteur intrinsèque chez l'enfant normal par quelques méthode que ce soit. Cela est sans doute dû au fait que jusqu'à présent les techniques usuelles étaient à base d'emploi de radioisotopes que les auteurs répugnent à employer chez l'enfant.

L'étude faite au Laboratoire sur le facteur intrinsèque chez l'enfant présente des lacunes puisque nous n'avons pas eu l'occasion d'explorer ce domaine chez le nourrisson, nous nous proposons cependant de le faire en prévoyant des difficultés surtout de récolte de suc gastrique.

Nous avons, avec M. le Professeur WOLFF, étudié 7 cas d'enfants normaux dont voici les observations :

Il faut préciser que, comme en ce qui concerne l'adulte, nous entendons par enfant normal, un sujet n'ayant aucune affection gastrique, hématologique ou pouvant perturber la sécrétion du facteur intrinsèque.

DUV... Marie-Christine, 6 ans.

Aucun antécédent familial.

Antécédants personnels : gastroentérite, rubéole, rougeole, primo-infection, coqueluche prolongée, typhoïde.

Hiver 1960-1961 : enfant toussé, amaigrissement (20 kg 500 - 18 kg 500), crachats hémoptoïques.

Scopie : grosse ombre arrondie latérohilaire gauche, cuti très fortement positive V.S. : 17/40, donc primo-infection en cours. G.R. = 4 400 000, H.B. = 87 %, V.G. = 0,98, légère polynucléose neutrophile, activité en facteur intrinsèque = suc gastrique normal.

MAN... Marhyse, 5 ans.

Admise au service pour sténose de la bronche lobaire inférieure droite avec image d'atelectasie des suites d'une primo-infection. Bilan biologique normal : G.R. = 5 100 000, H.B. = 100 %, V.G. = 0,97, G.B. = 7 800. Formule blanche normale.

Activité facteur intrinsèque : Suc gastrique 5,6 fois moins actif qu'un suc gastrique normal d'adulte.

PEY... Elisabeth, 11 ans.

Enfant de père inconnu. Otite suppurée fréquente. En 1960, timbre tuberculinique fortement positif. V.S. = à 58/82.

Légère anémie : G.R. = 3 400 000, H.B. = 70 %, G.B. = 11 700.

Volumineuses adénopathies médiastinales regressant sous le traitement : Rimifon - Cyclosérine.

Activité en facteur intrinsèque : suc gastrique 1,4 fois plus actif qu'un suc gastrique normal d'adulte.

HUB... Vivianne, 6 ans 1/2.

Un premier diagnostic de glomérulo-néphrite œdémateuse avait été porté, mais la concentration urinaire normale, les électrolytes normaux, de même que l'absence d'antistreptolysines laissent supposer qu'il s'agit plutôt d'une infection urinaire du type pyélite ou pyélonéphrite.

Troubles caractériels.

Activité en facteur intrinsèque: 6,5 fois moins actif qu'un suc gastrique normal d'adulte.

SEMS... Marie-Claire, 5 ans.

Retard psychomoteur. Pas d'antécédents familiaux. Grossesse normale.

Développement normal. Adénoïdectomie en août 1961.

Histoire: enfant nerveuse, s'exprimant mal, comprise uniquement par la mère. Pourtant à l'école enfant sage, apprenant bien, parlant correctement.

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique d'activité égale à celle d'un suc gastrique normal d'adulte.

SIMA... Eliane, 10 ans,

Comitialité. Pas d'antécédents comitiaux familiaux.

Antécédents personnels: 3^e enfant, accouchement normal à terme, rougeole, varicelle, coqueluche sans complications.

3^e crise comitiale depuis le début de l'année, apparaissant la nuit, durant 2 à 3 minutes, sans réveil et sans mémoire du sujet.

Développement somatique normal.

Activité facteur intrinsèque: suc gastrique d'activité égale à celle d'un suc gastrique normal d'adulte.

LABAR... Noëlle, 6 ans.

Atelectasie segmentaire du lobe inférieur droit.

Antécédent familial: rien de particulier, fille unique.

Antécédents personnels: Développement normal, rougeole, coqueluche, varicelle.

Histoire: Scopie douteuse au cours d'une coqueluche traînante, cuti négative. Amaigrissement, anorexie, asthénie.

L'image radiologique a disparu après le premier séjour à l'hôpital, mais a reparu depuis.

Activité en facteur intrinsèque: 5,3 fois moins actif qu'un suc gastrique normal d'adulte.

Reportons les résultats obtenus sur un tableau :

Noms	Fixation en c/p/m	Activité par rapport au suc normal
—	—	—
DUV...	99,3	Normal
MAN...	47,4	5,6 fois — actif
PEY...	124,5	1,4 fois + actif
HUB...	41	6,5 fois — actif
SEMS...	107,3	Normal
SIMA...	102	Normal
LABA...	49,7	5,3 fois — actif

Activité en facteur intrinsèque
de 7 sucs gastriques normaux d'enfants

Conclusions: Les résultats trouvés chez les enfants, comme nous le constatons, sont variables: trois sujets présentent une activité facteur intrinsèque de leur suc gastrique égale à celle d'un suc gastrique d'adulte normal; l'un a une activité plus forte; trois autres ont des activités plus basses.

Ces résultats peuvent servir de base à l'étude du facteur intrinsèque en pathologie chez l'enfant. Ils permettent de conclure qu'en moyenne, la sécrétion du facteur intrinsèque chez l'enfant normal est identique à celle de l'adulte normal.

LE FACTEUR INTRINSÈQUE CHEZ LE VIEILLARD NORMAL

Les recherches effectuées par GLASS dans ce domaine l'ont amené à différentes conclusions: dans un premier travail, il étudie l'absorption de la vitamine B₁₂ Co⁶⁰ grâce à sa méthode de mesure de la radioactivité retrouvée dans le foie, chez 60 sujets qu'il groupe suivant leur âge. Dans ce cas, il ne constate aucune diminution de l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂ chez le vieillard (52).

Par contre, s'il groupe ces sujets non plus par âge, mais suivant l'état sécrétoire de l'estomac, mesuré par la production ou l'absence de sécrétion de Cl H libre, il devient évident que la fixation de B12 est plus basse chez les sujets âgés présentant une hypo ou une anacidité que chez ceux qui ont une acidité normale. Il conclut que ces sujets présentant une anacidité gastrique ont en réalité un défaut global de leurs sécrétions stomacales et en particulier du facteur intrinsèque (53).

Nous avons, avec M. le Professeur WOLFF et le Docteur CUNY, repris cette étude en mesurant le taux du facteur intrinsèque chez 10 vieillards normaux — si nous osons le dire — ne présentant donc rien d'autre que leur sénescence.

OBSERVATIONS

HUC... Madeleine.

Femme âgée de 68 ans lorsque nous l'avons vue. A l'entrée, elle se plaint de douleurs mal définies à type de tiraillement, battement, brûlures du creux épigastrique, sans rythme ni horaire. L'examen clinique ne révèle rien. La tension artérielle est à 13/7.

Bilan biologique: G.R. = 3 850 000, G.B. = 5 400 avec formule normale, Hb. = 88 %, V.G. = 1,03, V.S. = 30 mm la 1^{re} heure, 58 mm la 2^e heure, glycémie à 0,96 g et urée à 0,40 g.

On note cependant une petite albuminurie et une cylindrurie; la concentration uréique basse fait penser à un léger tableau de néphrite chronique. L'E.C.G. est normal.

Le tubage gastrique montre une acidité libre normale.

	Stase —	1/4 h. après histamine —	1/2 h. après histamine —
H Cl libre g/l	/1	2,33	2,77
Ac. totale g/l	1,75	3,21	1,97

Le dosage de l'activité en facteur intrinsèque montre un suc gastrique qui, au 1/20^e, donne une fixation de 139,2 c/p/m., soit donc un suc gastrique 2,7 fois plus actif qu'un suc gastrique normal.

DOR... Camille, 84 ans.

En 1926: cholecystectomie.

En 1955: arrive au service présentant dyspnée, palpitation, tachycardie depuis trois mois. Perte de connaissances. A cette date rien à signaler pour les différents appareils si ce n'est cette tachycardie bien compensée.

Malade revu à intervalles réguliers: 1956, 1957, 1958.

La tachycardie a évolué vers une arythmie complète avec gros cœur. Le malade se plaint de vertiges fréquents et de constipation opiniâtre.

T.A.: 20/11 en 1956.

En 1959: douleurs gastriques à types de brûlures, rythmées par les repas. La radiographie montre un estomac allongé avec un liquide de stase; constipation, dyspnée.

En 1961: malade pesant 40 kg; œdème, oligurie, foie, cardiaque, oligurie.

Bilan biologique: G.R. = 3 760 000, Hb. = 77 %, V.G. = 1, G.B. = 8 800 formule normale, Urée = 0,50 g, V.S. = 47 mm 1^{re} heure, 70 mm 2^e heure, hypoprotidémie avec baisse des albumines à l'électrophorèse.

Le dosage de l'activité en facteur intrinsèque montre un suc gastrique qui, dilué au 1/20^e, donne une fixation de 111,1 c/p/m., soit un suc gastrique sensiblement normal.

GOD... Jeanne, 75 ans.

Vient au service pour lombalgies persistantes, avec irradiation dans la fesse et le membre inférieur droit, évoquant des algies sciatiques. Il existe un point douloureux sciatique.

T.A. — 18/9. Légère cystite.

Bilan biologique: G.R. = 3 950 000, Hb. = 88 %, V.G. = 1, G.B. = 7 200.

Le dosage de l'activité en facteur intrinsèque montre un suc gastrique qui, dilué au 1/32^e, donne une fixation de 76,8 c/p/m., soit donc un suc gastrique sensiblement normal.

LEY... Fernand, 61 ans.

En 1954, on découvre une anémie à 2 000 000, hypochrome dont on ne trouve pas l'étiologie.

Le traitement à base de fer + vitamine B12 + extraits hépatiques, remonte le taux des globules rouges à 4 500 000.

A l'arrêt du traitement, rechute de l'anémie à 2 500 000, remontée par une injection de vitamine B12 + Hépagyl par semaine.

Cette correction par la vitaminothérapie avait fait penser à une maladie de Biermer. Le myélogramme ne montre rien, le tubage gastrique montre une acidité libre présente :

	Stase	1/4 h. après histamine	histamine 1/2 h. après
	—	—	—
H Cl libre g/l	0,86	1,29	—
Ac. totale g/l	1,51	1,58	—

Le dosage de l'activité en facteur intrinsèque montre un suc gastrique qui, dilué au 1/4, permet une fixation de 81,7 c/p/m. Donc présence de facteur intrinsèque qui permet d'éliminer la maladie de Biermer. Mais toutefois suc gastrique 8,5 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

PET... Alix, 62 ans.

Ce sujet est adressé au service pour un bilan Hépato-digestif. Le sujet se plaint d'anorexie, de douleurs à type de coliques avec alternances de diarrhée et de constipation.

Aucun antécédent particulier si ce n'est un paludisme en 1919.

L'examen clinique est négatif :

Système nerveux normal, léger tremblement sénil.

Système cardio-vasculaire normal avec une T.A. à 15/10.

Auscultation pulmonaire normale.

Légère hypertrophie prostatique restée élastique.

Légère hépatomégalie non douloureuse.

Bilan biologique : G.R. = 4 400 000, Hb. = 94 %, V.G. = 1,07, G.B. = 9 300 formule normale.

V.S. accélérée à 70 mm la 1^{re} heure.

Les tests « hépatiques » sont légèrement perturbés.

Taux de prothrombine à 54 %.

Autres examens normaux.

Il s'agit donc vraisemblablement d'une cirrhose débutante chez un vieillard. Le dosage de l'activité intrinsèque montre un suc gastrique qui, dilué au 1/16^e, permet une fixation de 43,9 c/p/m, soit donc un suc gastrique 6,1 fois moins actif.

PETR... Emélinna, 59 ans.

La malade se plaint de différents syndromes, mais il s'agit d'une hypocondriaque; les différents bilans radiologiques sont normaux. Cependant l'état général de la malade est déficient avec subictère et amaigrissement.

Bilan biologique: G.R. = 3 800 000 donc légère anémie, Hb. = 91 %, V.G. = 1,09, G.B. = 5 900 avec formule normale, V.S. = 47 mm à la 1^{re} heure, Glycémie à 1 g, Urée à 0,26 g.

Le tubage gastrique révèle une hyperacidité relative:

	Stase	1/4 h. après histamine	1/2 h. après histamine
	—	—	—
H Cl libre g/l	1,38	2,48	3,72
Ac. totale g/l	3,13	4,52	4,96

Le dosage de l'activité en facteur intrinsèque montre un suc gastrique qui, dilué au 1/4, permet une fixation de 94,2 c/p/m, soit donc un suc gastrique 6,2 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

MERV... Camille, 77 ans.

Il s'agit d'un vieillard grabataire, impotent, ne pouvant marcher: pas d'abduction, limitation de la flexion, raideur des membres. Raideur et déformation de la colonne en cyphose provoquant une application douloureuse des dernières côtes sur la crête illiaque droite.

Incontinence totale. E.G.C. = normal.

Bilan biologique: G.R. = 4 150 000, Hb. = 93 %, V.G. = 1,1, V.S. = peu augmenté, glycémie à 0,72 g, urée à 0,28 g, protide sanguins = 63 g.

Le dosage de l'activité en facteur intrinsèque montre un suc gastrique qui, dilué au 1/16^e, permet une fixation de 41 c/p/m, soit donc un suc gastrique 6,7 fois moins actif.

MUE... Joseph-Georges, 70 ans.

Vieillard hospitalisé pour hypertension artérielle à 25 de maxima et pour lombalgies chroniques. A la radiographie, on note la présence de nombreux ostéophytes sur la colonne vertébrale.

Bilan biologique: G.R. = 4 580 000, Hb. = 96 %, V.G. = 1, G.B. = 6 200 avec formule normale.

Electrolytes normaux, bonne diurèse, protide sanguins à 53 g, urée à 0,42.

Le suc gastrique dilué au 1/4 donne une fixation de 41,3 c/p/m, ce qui représente une activité 27 fois inférieure à la normale.

SURR... 72 ans.

Il s'agit d'un vieillard éthylique. Le bilan humoral et biologique ne montre aucune perturbation essentielle.

Le suc gastrique dilué au 1/16^e donne une fixation de 20 c/p/m, on peut en conclure une absence d'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique.

COT... Lucie, 69 ans.

Antécédents familiaux: mère décédée à 45 ans d'un néo au sein. Père décédé à l'hôpital Villemin de tuberculose à 64 ans. Sœur décédée d'une phlébite à 39 ans. Autre sœur décédée à 58 ans. Frère décédé d'un néo pulmonaire à 64 ans.

Antécédents personnels: Hystérectomie à 49 ans. Vit seule dans des conditions précaires, mange peu: bouillon de légumes uniquement.

A l'entrée, présente une anémie de privation; myopie.

Opérée d'une cataracte sénile de l'œil droit, il y a deux ans, cataracte actuelle de l'œil gauche.

Etat général mauvais: amaigrissement, fatigue, palpitations. Marche difficile. Cyphose et bombement sternal.

T.A. = 17/9, pouls = 68.

Mauvaise digestion, absence totale de dents et d'appareils de prothèse, constipation. Réflexes normaux, signe de Babinski gauche. Le traitement ramène l'anémie à: G.R. = 4 390 000, Hb. = 100 %, V.G. = 1,02, G.B. = 6 800 formule normale.

Electrolytes normaux, glycémie = 1,65, urée = 0,28, E.C.G. = normal. Le dosage de l'activité en facteur intrinsèque montre une absence totale de cette activité dans le suc gastrique.

Nous n'avons pas pu obtenir dans tous les cas le dosage de l'acidité gastrique, cependant, nous avons relevé le pH de tous les sucs gastriques et cela permet d'avoir une indication quant à la présence ou l'absence d'une acidité libre: on peut en effet affirmer qu'en dessous d'un $\text{pH} = 3$, une telle acidité existe sans qu'il y ait cependant corrélation entre le pH et la quantité de Cl H libre.

On peut affirmer une absence de Cl H libre au-dessous d'un pH = 4. Nous allons reporter sur un tableau les principales données recueillies à propos des observations que nous venons de rapporter et nous en tirerons quelques conclusions.

Noms	Ph	Activité du suc gastrique	Globules rouges N/mm ³
—	—	—	—
HUG...	1,6	2,7 fois + actif	3 850 000
DOR...	7,4	Normal	3 760 000
GODF...	2,8	Normal	3 950 000
PET...	1,7	6,1 fois — actif	4 400 000
PETR...	1,1	6,2 fois — actif	3 800 000
MER...	1,2	6,7 fois — actif	4 150 000
LEY...	2	8,5 fois — actif	4 500 000
			après traitement
			2 000 000
			avant traitement
MUE...	8	27 fois — actif	4 580 000
SURR...	4,3	Nulle	4 390 000
COT...	8	Nulle	après traitement

Activité en facteur intrinsèque du suc gastrique
chez 10 vieillards normaux.

Nous retrouvons le fait que les sujets achlorhydriques : les 3 derniers, MUE..., SURR..., COT..., ont un facteur intrinsèque plus abaissé (ou même nulle) que les vieillards ayant une acidité libre présente dans leur suc gastrique.

Cependant, même parmi ceux-ci, 4 sujets sur 6 (PET..., PETR..., MERL..., LEY..., plus GOD..., et HUC...) ont un facteur intrinsèque nettement abaissé.

Nous ne retrouverons pas chez les sujets ayant un facteur intrinsèque abaissé et même chez deux sujets ayant une activité en facteur intrinsèque nulle, d'anémie hyperchrome.

Chez un sujet achlorhydrique DOR..., nous trouvons un facteur intrinsèque normal.

Notre conclusion est la suivante : chez le vieillard, la sécrétion de facteur intrinsèque, comme d'ailleurs celle de beaucoup d'autres glandes est abaissée à des degrés différents.

Nous clôturons là notre chapitre sur la physiologie du facteur intrinsèque en nous rendant compte que beaucoup reste à faire et à découvrir dans ce domaine et nous abordons le chapitre suivant qui est le facteur intrinsèque en Pathologie.

LE FACTEUR INTRINSÈQUE EN PATHOLOGIE

Mention spéciale doit être faite à l'affection qui est à l'origine de toutes ces recherches et de la découverte du facteur intrinsèque: c'est-à-dire à l'anémie de Biermer.

L'anémie de Biermer

ETAT ACTUEL DE LA QUESTION

Nous ne désirons pas faire ici une étude complète de l'anémie de Biermer, ce qui nécessiterait beaucoup plus qu'un simple chapitre. Rappelons d'abord que le terme d'anémie de Biermer encore appelée anémie pernicieuse d'Addison, est réservé par les Anglo-Saxons à l'anémie mégalo-blastique caractérisée par une déficience idiopathique en facteur intrinsèque de CASTLE. En France, on inclut encore quelquefois dans ce terme toute la pathologie où existe une carence pure en vitamine B₁₂. La nomenclature anglo-saxonne devrait se généraliser car la déficience en vitamine B₁₂ reconnaît de nombreuses causes et sa pathogénie devient tous les jours de plus en plus complexe.

L'anémie de Biermer est donc l'anémie mégalo-blastique par carence en vitamine B₁₂, elle-même provoquée par une déficience de sécrétion du facteur intrinsèque, de cause inconnue. Dans cette affection, la muqueuse gastrique est généralement atrophiée; cette atrophie, démontrée par biopsie gastrique, est plus ou moins sévère, ne touchant pas électivement une cellule particulière mais prédominant au fundus. Les études qui ont été faites sur la déficience en

vitamine B₁₂ due au parasitisme des sujets par « *Diphyllobotrium latum* » au cours de laquelle une gastrite atrophique se développe, suggère que cette atrophie gastrique est secondaire à la déficience en vitamine B₁₂ et non primaire (54). Cette théorie est d'ailleurs confirmée par les cas publiés de plus en plus nombreux d'anémie de Biermer chez l'enfant, où l'on ne retrouve ni achlorhydrie, ni atrophie gastrique (55-56-57).

D'après HERBERT (20), la déficience en facteur intrinsèque elle-même a trois causes principales :

— Une inhabilité héréditaire pour les glandes de l'estomac de sécréter le facteur intrinsèque.

Il donne comme arguments ces cas déjà cités d'anémie de Biermer chez l'enfant où seul le facteur intrinsèque est absent du suc gastrique, alors que l'on y trouve en quantité normale, H Cl libre et pepsine. Il rapproche de cela le fait que la maladie a une nette tendance familiale (58) et que des jumeaux monoovulaires présentaient tous deux la maladie en même temps (59).

Cette inhabilité de sécrétion est d'ailleurs plus ou moins grande puisque certains auteurs (60) rapportent le cas d'une jeune fille de 16 ans, atteinte d'anémie de Biermer avec absence de sécrétion de facteur intrinsèque dans les conditions normales, mais une injection de « Carbachol » (chlorhydrate de Carbamylcholine) qui est un stimulant du parasympathique, permettait la sécrétion de facteur intrinsèque.

— Une facilité également héréditaire de présenter une gastrite atrophique; dans ce cas, la gastrite atrophique serait à l'origine de la déficience en facteur intrinsèque. Mais tous les cas de gastrite atrophique ne donneraient pas ce trouble comme nous le verrons plus tard, et seuls quelques sujets pourraient présenter une mégalo-blastose. Une tendance nette de certains sujets à développer une gastrite atrophique (tendance génétique) en vieillissant, a été démontrée par UNGLEY C.-C. (61).

— Anémie de Biermer comme stade final d'une gastrite inflammatoire dégénérant en gastrite atrophique.

Là encore la gastrite est primaire, mais ce dernier cas serait tout de même la minorité et relativement rare.

Donc la majorité des anémies de Biermer auraient pour origine un défaut congénital de sécrétion de facteur intrinsèque dû à un gène dominant, mais de pénétrance faible (62). On pourrait expliquer la latence de production de l'anémie clinique, d'abord par l'existence de réserves, ensuite par une certaine aptitude des cellules jeunes à sécréter encore pendant un certain temps de faibles quantités de facteur intrinsèque et peut-être également par le fait que la vitamine B₁₂, si elle est absorbée en quantité notable, peut passer à travers la paroi intestinale, même en absence de facteur intrinsèque.

Cette pathogénie n'exclut donc pas la possibilité de cas frustes d'anémie de Biermer.

Il eut été intéressant de pouvoir tester avec notre méthode le suc gastrique d'un de ces jeunes sujets atteints d'anémie de Biermer, mais nous n'en avons malheureusement pas eu à notre disposition.

Nous avons étudié, en collaboration avec M. le Professeur WOLFF, 23 cas d'anémie pernicieuse dûment diagnostiqués (72).

RÉSULTATS

OBSERVATIONS

A.K..., homme de 53 ans.

En 1946: présente un ulcère duodéal et une achlorhydrie, mais la formule sanguine est normale.

En 1951: traumatisme de la moelle épinière, provoquant une paraplégie et une incontinence rectale et urinaire. L'anémie n'est pas recherchée.

Depuis plusieurs années, hémorroïdes saignant donnant le masque d'anémie ferroprive.

En 1961: hospitalisé pour troubles du décubitus, la formule sanguine est à ce moment perturbée.

Achlorhydrie.

Bilan biologique: G.R. = 2 700 000. Hb = 10,2 %.

Le myélogramme montre une moelle riche, à formes cellulaires matures, mais à nette tendance mégaloblastique ; présence de corps de Joly.

Test de Schilling: pratiqué sans facteur intrinsèque, donne une élimination urinaire de 2 % et 1,2 % dans deux tests ; avec facteur intrinsèque, l'élimination monte à 15,6 %.

Dosage de l'activité en facteur intrinsèque: Activité nulle. 2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 2 c/p/m/100 mg de tissu frais.

BAR... Joseph, 33 ans.

Sujet présentant une anémie hyperchrome avec anorexie. G.R. = 2 000 000, V.G. = 1,35.

La ponction sternale montre la présence de rares mégalo-blastes. Le tubage gastrique, après histamine, révèle une achlorhydrie, mais pas une achylie, puisque le volume total, prélevé

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
	—	—	—	—	—
Volume en ml	22	16	3	3,7	12
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	1	1	+	+	0,69
Ac. totale g/l	1	1	+	+	0,69

après histamine, est de 34,7 ml. L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle: 2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 5 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

BONT... Camille, 81 ans.

Episodes diarrhéiques et anémie hyperchrome.

G.R. = 1 900 000, V.G. = 1,10.

1 mégaloblaste pour 1 000 éléments figurés.

Achlorhydrie et hypochylie.

	Après histamine			
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h
	—	—	—	—
Volume ml	—	5	5	1
Cl H libre g/l	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	+	+	+	+

L'activité facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle: 2 ml du suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 20 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

BON...

Nous avons peu de renseignements sur ce sujet; nous savons qu'il a présenté une anémie mégaloblastique guérie par la vitamine B12; qu'il présente une achlorhydrie complète histamino résistante.

L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle: 2 ml du suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 15 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

CAR... Marie, 53 ans.

En 1960: anémie à 1 150 000 G.R., anisocytose, poikilocytose. V.G. = 0,9, Hb. = 25 %, G.B. = 3 800.

Myélogramme: 11 mégaloblastes pour 500 éléments figurés.

Langue dépapillée, rouge vif, tuméfiée.

Achlorhydrie gastrique, histamino-résistante.

Pas de signes nerveux.

Plus tard: G.R. = 2 864 000, V.G. = 1,30, Hb. = 65 %.

12,5 mégaloblastes pour 500 éléments.

Après thérapeutique: G.R. = 4 968 000, pas de mégaloblastes.

Activité en facteur intrinsèque: 2 ml du suc gastrique pur dialysé permettent une fixation de 25 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

CHI...

Anémie de Biermer typique, traitée avec succès par la vitamine B12; a présenté une crise réticulocytaire.

Actuellement ses G.R. sont remontés à 4 000 000.

Activité en facteur intrinsèque: nulle; 2 ml du suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 8 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

CON... Marcel, 56 ans.

En 1959, anémie à 2 250 000 G.R., V.G. = 1,30, Fe sérique = 250 γ .

Achlorhydrie et hypochylie.

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
	—	—	—	—	—
Volume ml	4	1,5	5	6	4
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentiellé g/l	+	+	+	+	+
Ac. totale g/l	+	+	+	+	+

Myélogramme: Promégalo blasts	2
Mitoses	1
Mégalo blasts basophiles	18
» polychromatophiles ..	20
» orthochromatophiles ..	12
Total	53 %

Test de Schilling: 0,75 %.

Activité en facteur intrinsèque: nulle; 2 ml de suc gastrique pur dialysé, permettent une fixation de 2 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

DOL... Maurice, 62 ans.

Malade en mauvais état général, amaigrissement progressif depuis quelques années. Douleurs thoraciques syncopales, irradiant au bras gauche et à l'épaule, ainsi qu'à l'abdomen. Pâleur, teint cireux. Hépatomégalie discrète, pas de splénomégalie.

E.C.G. = Bloc de branche droit par cardioangiosclérose.

Anémie à 2 000 000 G.R., V.G. = 0,92, Hb. = 48 %.

Myélogramme: Mégalo blasts basophiles	5
» polychromatophiles ..	6,5
» orthochromatophiles .	0,5
Total	12 %

Achlorhydrie et hypochylie.

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
	—	—	—	—	—
Volume ml	11	3,8	2,8	1	2
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,44	+	+	+	+
Ac. totale g/l	0,44	/	/	/	/

La thérapeutique par vitamine B12 permet de faire remonter les G.R. à 4 750 000 et fait disparaître les mégalo blasts.

Test de Schilling: 4,08 %.

Activité en facteur intrinsèque: nulle; 2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 0 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

FORT... Jeanne, 56 ans.

En 1939: anémie hyperchrome. G.R. = 1 089 000, V.G. = 1,45.

En 1941: G.R. = 1 050 000, V.G. = 1,62, 1 mégalo blast pour 500 éléments figurés.

En 1942: G.R. = 3 900 000, V.G. = 1,28.

En 1946: G.R. = 6 600 000, V.G. = 1,15.

En 1952: bon état général, quelques signes nerveux; démarche spastique; diminution de la force musculaire; sensibilité diminuée.

En 1959: à la radioscopie, pylore incontinent, petit estomac à antré non dilaté au cours de l'épreuve.

A la gastroscopie, pas d'aspect néoplasique, muqueuse achylique saignant facilement en nappe: gastrite atrophique diffuse.

Myélogramme: Mégaloblastes	polychromatophiles ..	1,5
»	orthochromatophiles .	0,5

Total 2 %

Fe sérique: 60 γ .

Achlorydrie, mais pas d'achylie puisque le volume recueilli après histamine est de 53 ml.

	Stase	Après histamine		
	—	1/4 h	1/2 h	1 h
Volume ml	2	25	25	3
H Cl libre g/l	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	+	0,66	0,51	/
Ac. totale g/l	+	0,66	0,51	/

Test de Schilling: 0,49 %.

Activité en facteur intrinsèque: nulle; 2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 4 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

L.B..., femme de 52 ans.

Anémie de Biermer, diagnostic récent.

En 1930: appendicectomie.

En 1961: asthénie, vomissement, glossite, fourmillement dans les mains, pas de parasites intestinaux.

Bon état général, mais pâle, petite, cheveux gris, langue rouge et vernissée, plaques de peau non pigmentée.

Achlorydrie totale depuis trois ans.

Anémie G.R. = 1 450 000, Hb. = 5,3 %.

Myélogramme: moelle riche, surtout type mégaloblastique; accroissement des réticulocytes; polynucléaires géants hypersegmentés.

Activité facteur intrinsèque: nulle; 2 ml du suc gastrique pur dialysé, donnent une fixation de 19 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

LOUI... Marie, 76 ans.

En 1955, anémie hyperchrome à 3 360 000 G.R., V.G. = 1,04.

Myélogramme: Promégalo blastes	1
Mégalo blastes basophiles	22
» polychromatophiles ..	17
» orthochromatophiles .	1
	—
Total	41 %

En 1957: tubage après histamine révélant une achlorhydrie mais pas d'achylie.

	Stase	Après histamine		
	—	1/4 h	1/2 h	1 h
	—	—	—	—
Volume ml	40	15	10	7
H Cl libre g/l	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,44	0,47	0,40	0,36
Ac. totale g/l	0,44	0,47	0,40	0,36

Radiographie: rigidité de la région antrale,
plaque d'atrophie à la gastroscopie.

En 1961: Fe sérique: 90 γ , G.R. = 4 500 000, V.G. = 1,01.

Traitement par vitamine B12 efficace.

Test de Schilling: 2,33 %.

Activité en facteur intrinsèque: nulle; 2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 9 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

MALB... Marthe, 70 ans.

Entrée le 29 mars 1961. Anémie hyperchrome intense.

G.R. = 730 000, V.G. = 2,00, 29 % de mégalo blastes dans la moelle.

Achylie intense et achlorhydrie absolue, histamino-résistante.

La biopsie gastrique révèle une atrophie quasi totale, visible également à la gastroscopie.

Le traitement par 100 γ de B12 par jour en intramusculaire pendant trois mois, associés à des extraits hépatiques fait remonter le nombre des globules rouges à 3 810 000.

L'activité en facteur intrinsèque est quasi-nulle: 2 cc du suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 30 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

MAR... Emile, 65 ans.

Anémie hyperchrome. G.R. = 3 650 000, V.G. = 1,26.

Achlorhydrie gastrique. Pas de ponction sternale.

Guéri par des extraits hépatiques et de la vitamine B12.

Traitement interrompu depuis 3 ans, en rechute actuellement.
L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle;
2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 1
c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

MARC... André, 57 ans.

En 1956: anémie hyperchrome. G.R. = 3 560 000, V.G. = 1,01,
Fe = 50 γ.

Myélogramme: Promégaloblastes	1
Mitoses	1
Mégaloblastes basophiles	22
» polychromatophiles ..	13,5
» orthochromatophiles .	3,3
Total	41 %

Achlorhydrie histamino-résistante.

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	14,5	2,5	4,5	4	16
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,80	+	+	+	1,17
Ac. totale g/l	0,80	+	+	+	1,17

L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle;
2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 17
c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

Test de Schilling: 10 %.

PELL... Cécile, 58 ans.

Troubles digestifs à type de douleurs et de pesanteurs épi-
gastriques post-prandiales.

En 1960: anémie hyperchrome: G.R. = 1 784 000, Fe = 131 γ,
leucopénie; formule d'Arneth déviée vers la droite.

Myélogramme: moelle riche,

14,6 mégalo-blastes pour 500 éléments.

Gastroscopie: atrophie gastrique typique.

Achlorhydrie histamino-résistante.

	Après histamine			
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h
H Cl libre g/l	0	0	0	0
Ac. totale g/l	0,36	0,25	0,40	0,25

L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle ;
2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 15
c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

PEN... Marie.

Il s'agit d'une anémie de Biermer certaine, avec présence de
mégalo blastes dans la moelle sternale.

Hernie diaphragmatique et affection urinaire chronique aug-
mentant l'anémie.

Pas d'achlorhydrie histamino-résistante, mais achylie.

	Stase	Après histamine
	—	—
Volume ml		9
H Cl libre g/l	0,88	1,17

L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle ;
2 ml de suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 11
c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

PER... Marcel, 53 ans.

Malade étiqueté « Maladie de Biermer » en 1950, mais dossier
disparu, n'a pas suivi son traitement de façon rigoureuse et
revient pour bilan. G.R. = 3 400 000, Hb. = 64 %, V.G. = 0.94.

Myélogramme : moelle riche, anisocytose, anisochromie, mais
pas de forme anormale ni de répartition anormale.

Gastroscopie : gastrite diffuse de type atrophique sans image
en aires plus marquées.

Biopsie gastrique : gastrite atrophique typique.

Biologie : Fe sérique : 25 γ .

Achlorhydrie histamino-résistance, pas d'achylie.

	Stase	Après histamine			
	—	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
	—	—	—	—	—
Volume ml	10,5	5,8	4,5	11,5	23
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,58	0,58	+	0,55	0,88
Ac. totale g/l	0,58	0,58	+	0,55	0,88

Electrophorèse : augmentation des α_1 α_2 et β globulines,
albumine normale.

V.S. très accélérée : 122 la 1^{re} heure.

Protides totaux à 75 g.

Ce tableau évoque une néoplasie cachée qui saigne.

Cependant l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle: 2 ml du suc gastrique pur dialysé donnent une fixation de 5 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

Il peut s'agir d'une maladie de Biermer dont le tableau clinique est modifié par une autre affection pouvant être de nature néoplasique.

PIL Marcel, 85 ans.

Anémie de Biermer, diagnostiquée chez ce malade à l'âge de 76 ans. G.R. = 1 400 000, Hb. = 45 %, 42 % de mégalo blastes dans la moelle sternale.

Pas de glossite, mais œdèmes et diarrhées, obnubilation.

Achlorhydrie histamino-résistante.

Biopsie gastrique: atrophie gastrique et indifférenciation.

Le traitement pour 60 γ par jour de vitamine B12 est efficace; traitement arrêté en mai 1953; rechute en 1954 par des troubles neurologiques sans mégalo blastose.

B12 sérique dosée à Nancy = 30 m γ /l.

Une charge orale de 300 γ par jour de vitamine B12 pendant quatre jours fait remonter le taux sérique à 200 m γ /l.

Traité jusqu'à ce jour avec succès.

L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est nulle: 2 ml du suc gastrique pur et dialysé donnent une fixation de 1 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

R. F..., femme de 56 ans.

En 1930, pneumothorax pour tuberculose pulmonaire.

Anémie depuis 15 ans avec fatigue, évanouissement, nervosité, paresthésies, palpitations, dysphagie.

Langue rouge et décapillée.

En 1961: G.R. = 2 500 000, V.G. = 1,20.

Mai 1961: G.R. = 4 000 000, V.G. = 1,15 après traitement.

Pas de myélogramme.

Test de Schilling: 0 %.

Activité en facteur intrinsèque nulle; 2 ml de suc gastrique pur et dialysé donnent une fixation de 2 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

RICH...

Nous n'avons pas eu l'observation de ce sujet, nous savons simplement qu'il s'agit d'une maladie de Biermer certaine.

L'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique est d'ailleurs nulle: 2 cc de suc gastrique pur et dialysé donnent une fixation de 26 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

SERV... Pierre, 78 ans.

Anorexie, vomissements, radiographie d'estomac normale.

Syndrome neurologique avec marche spasmodique, légère ataxie, abolition des réflexes et de la sensibilité profonde: Pseudo-Tabes. Le B.W. est négatif.

Anémie: 1 320 000 G.R., V.G. = 1,06.

Neutropénie avec 36 % de polynucléaires.

Le traitement à la vitamine B12 permet de passer à 3 800 000 globules rouges.

Myélogramme: Promégaloblastes	1,5
Mitoses	1
Mégaloblastes basophiles	39
» polychromatophiles ..	6,5
» orthochromatophiles .	3
Total	55 %

Achlorhydrie, histamino-résistante; achylie.

	Stase	1/2 h	1 h
	—	—	—
Volume ml	43	5,3	2
H Cl libre g/l	0	0	0
Ac. totale g/l	0,36	0,15	0

Activité en facteur intrinsèque nulle; 2 ml de suc gastrique pur et dialysé donnent une fixation de 4 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

THIR... Eugénie, 64 ans.

Asthénie, glossite, réflexes diminués, anémie à 3 750 000 G.R., V.G. = 1.

Myélogramme: Mégaloblastes polychromatophiles ..	2
» orthochromatophiles .	3
Total	5 %

Achlorhydrie histamino-résistante et achylie.

	Stase	Après histamine		
	—	1/4 h	1/2 h	1 h
	—	—	—	—
Volume ml	27	2,9	6,4	2,7
H Cl libre g/l	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,66	+	0,66	0,69
Ac. totale g/l	0,66	+	0,66	0,69

Activité en facteur intrinsèque nulle: 2 cc de suc gastrique pur et dialysé donnent une fixation de 13 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

VOU..., 75 ans.

En 1959: signes nerveux; sensations vertigineuses, signe de Romberg, hypotomie, faiblesse musculaire; sensibilité tactile diminuée.

Gastroskopie: gastrite atrophique; présence d'œufs de trico-céphales dans les selles.

Myélogramme: Mégalo-blastes basophiles	15
» polychromatophiles ..	5,5
» orthochromatophiles .	2,5
Total	23 %

Achlorhydrie histamino-résistante, pas d'achylie.

	Stase	Après histamine		
		1/4 h	1/2 h	1 h
Volume ml	35	6	20	45
H Cl libre g/l	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,76	1,31	0,62	0,50
Ac. totale g/l	0,76	1,31	0,62	0,50

Test de Schilling: 4,25 %.

Activité en facteur intrinsèque nulle: 2 ml de suc gastrique pur et dialysé donnent une fixation de 2 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

Conclusions :

Nous devons remarquer tout d'abord que, sauf dans un cas, PEN... Marie, où il y a une forte hypochlorhydrie, tous les autres malades présentent une anachlorhydrie totale histamino-résistante, ce qui est bien conforme aux données classiques. Par contre, plusieurs des sujets ne présentent pas cette achylie qu'on attribue souvent au biermérien à un stade avancé. Pourtant, un sujet tel que VOU... Aimé, qui n'a manifestement pas d'achylie, puisque le volume total recueilli après l'injection d'histamine est de 71 ml, présente tout de même à la gastroskopie une gastrite de type atro-

phique, ce qui laisse supposer que cette gastrite n'est pas totale ou ne touche pas toutes les cellules. On retrouve d'ailleurs cette gastrite chez tous les sujets qui ont pu être examinés soit en gastroscopie, soit par l'intermédiaire d'une biopsie. Il faut cependant donner une définition du terme achylie: certains auteurs l'emploient quand il y a défaut de sécrétion d'acide chlorhydrique et de pepsine; il faut, croyons-nous, l'entendre dans un sens plus large et dire qu'il y a achylie quand il y a défaut de sécrétion totale de l'estomac après stimulation à l'histamine, ce défaut pouvant être considéré quand l'aspiration à la sonde ne peut ramener que quelques ml d'un liquide visqueux qui peut d'ailleurs n'être que de la salive déglutée. Nous n'avons rencontré ce cas qu'une seule fois chez nos biermériens et évidemment, le dosage en a été rendu impossible ou sans valeur.

Chez tous les sujets examinés, la thérapeutique élective à la vitamine B₁₂ en injection a ramené les phénomènes pathologiques à la normale.

Dans tous les cas étudiés, l'application de la technique à l'intestin de cobaye montre une « Activité en facteur intrinsèque » nulle et cela aussi bien chez le malade en pleine crise que chez le malade en rémission hématologique.

La méthode décrite dans ce travail permet donc, en présence d'une symptomatologie incomplète, le diagnostic de certitude d'une anémie de Biermer, et de différencier celle-ci d'affections telles que la « Sprue Nostras », maladie plus rare mais que l'on rencontre également dans nos contrées, caractérisée outre la mégaloblastose et l'anémie hyperchrome, par une diarrhée (4 à 6 selles par jour, gris sales, fétides, mousseuses, graisseuses, non accompagnées de tenesme et d'épreintes). Il est difficile de porter un diagnostic différentiel d'avec l'anémie de Biermer, d'autant plus que nombre de biermériens présentent également des troubles intestinaux à type de diarrhée. Le test de Schilling simple ne permet pas non plus de différencier les deux affections, car dans un cas comme dans l'autre, l'absorption de la vitamine B₁₂ est basse sinon nulle. En utilisant la méthode

à l'intestin de cobaye in vitro, nous avons pu révéler une anémie de Biermer se cachant sous le masque d'un « Sprue Nostras ».

Voici l'observation :

MIO... Roger, homme de 32 ans.

Aucun antécédent familial, mais antécédent personnel de retard de croissance ; actuellement, le malade mesure 1 m 60 et pèse 47 kg.

Depuis deux ans, augmentation du nombre des selles dépassant 2 selles par jour, semi-liquides, blanchâtres avec épisodes de coliques et de diarrhée liquide. Amaigrissement important depuis ce temps : 8 kg. Asthénie prononcée.

L'examen clinique ne révèle rien de particulier, si ce n'est un ballonnement intestinal et de petits ganglions inguinaux.

Pas d'hépatomégalie, ni de splénomégalie.

Bilan biologique : Transit intestinal augmenté, lavement baryté normal ; électrolytes normaux ; électrophorèse : diminution globale de tous les pics ; protides totaux : 55 g.

Hypocoagulabilité sanguine.

Glycémie à 0,95, mais tendance à l'hypoglycémie avec courbe aplatie d'hyperglycémie provoquée.

Cholestérol total à 1,29.

Examen des selles : Pas de parasites, nombreux acides gras, steatorrhé, bilan pancréatique normal.

Légère anémie à 4 250 000, V.G. = 0,94, Hb. = 80 %, formule blanche normale.

Ponction sternale : aspect mégaloblastique surtout des éléments polychromatophiles.

Tubage gastrique :

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	55	32	45	35	52
H Cl libre g/l	1,28	2,37	1,93	1,09	0,95
Ac. potentielle g/l	0,54	0,91	0,62	0,36	0,51
Ac. totale g/l	1,82	3,28	2,55	1,45	1,48

Le traitement comprenant : restriction du gluten alimentaire, cortancyl, foldine et vitamine B12 en intra-musculaire, permet au malade d'être amélioré et de reprendre 1 kg en 7 jours. L'activité facteur intrinsèque est nulle : puisque 2 cc de suc gastrique pur et dialysé permettent une fixation de 28 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

Sauf en ce qui concerne le cas que nous venons de rapporter, et d'autres semblables, les résultats trouvés chez les biermériens avérés sont superposables à ceux obtenus chez ces mêmes sujets par la méthode de Schilling. Dans le tableau suivant figurent les résultats que donnent les deux méthodes; ceux fournis avec le test de Schilling sont donnés en pourcentage de la radioactivité administrée oralement, et les résultats obtenus par la méthode décrite plus haut, en c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

Noms	Schilling %	Fixation cpm/100 mgs
—	—	—
A. K...	2 et 1,2	2
CON...	0,75	2
DOL...	4,08	0
FORT...	0,49	4
LOUL...	2,33	9
MARC...	10	17
R. F...	0	2
VOU...	4,25	2

Résultats comparés obtenus chez 8 biermériens avec la méthode de Schilling et la méthode « in vitro ».

Relevons seulement de ce tableau le cas de M. MARC... dont le Schilling est égal à 10 %; dans ce cas, une conclusion nette et précise ne peut être tirée, et seul l'examen clinique pourrait venir à l'appui ou infirmer le diagnostic d'anémie de Biermer. En effet, le test de Schilling est statistiquement mis au point; les sujets ayant une élimination urinaire inférieure à 7 % sont considérés comme des biermériens certains. Mais on n'élimine formellement cette maladie que si l'élimination est supérieure à 20 %; entre ces deux limites, le cas est douteux et les auteurs recommandent de recommencer le test simple encore une fois. Quelquefois le doute ne peut être levé.

Le résultat que nous obtenons pour ce sujet: 17 c/p/m bien que plus élevé que les autres résultats, est tout de même

inférieur à la fixation donnée par l'intestin en absence de facteur intrinsèque; le doute n'est pas possible. On peut expliquer la différence de ce résultat et des autres résultats par la présence plus ou moins grande de facteur inhibiteur; mais ce n'est là qu'une hypothèse qu'il reste à vérifier.

Nous voudrions, ici, établir une comparaison entre les deux méthodes: celle de Schilling et la mesure de l'activité facteur intrinsèque in vitro.

Reprenons les griefs que l'on fait à l'emploi de la méthode de Schilling en clinique humaine:

le test de Schilling reflète l'absorption intestinale d'où manque de spécificité. Notre méthode, elle, est spécifique du facteur intrinsèque. A ce propos, concluons que ces deux méthodes se complètent l'une l'autre, un test de Schilling bas ne révèle pas toujours une anémie de Biermer; le test in vitro faisant suite pourra, à l'occasion, infirmer le diagnostic;

l'administration de substance radioactive à l'homme pour l'étude du facteur intrinsèque n'est plus nécessaire;

la pathologie rénale n'influence plus le résultat;

la reproductibilité du test de Schilling chez le même individu n'est pas toujours excellente. Schilling lui-même rapporte un cas d'une jeune femme de 37 ans dont deux résultats successifs étaient aussi différents l'un de l'autre que 1,2 % et 12 %.

Nous avons, chez trois sujets, dosé l'activité facteur intrinsèque du suc gastrique dans les prélèvements différents:

Chez Mme ROC... Emilie, biermérienne, deux prélèvements espacés d'une semaine donnent les mêmes résultats: suc gastrique dilué au 1/4: 14 et 14, de même que M. FRA... Hubert et LELEM...

Cas limites

Nous rapportons trois cas cliniques que nous plaçons dans ce chapitre sur l'anémie de Biermer plutôt pour essayer d'en donner une explication que par suite d'une conclusion formelle.

Le premier cas est celui de Mme RETT... Madeleine, âgée de 36 ans.

Cette malade arrive au service avec une glossite, une langue râpeuse et plissée; de petits signes nerveux faits d'engourdissement des extrémités, de crampes musculaires, de sensations de doigts morts aux mains. Elle ressentait en outre, depuis un an, des douleurs de siège épigastrique et de type de brûlures non rythmées.

Au point de vue bilan biologique, elle présentait une anémie hyperchrome à 3 500 000; V.G. = 1,40; le Fe sérique était à 205 γ .

Un myélogramme montrait alors des formes cellulaires à tendances mégaloblastiques pouvant évoquer une anémie de Biermer.

Le tubage gastrique montre une chlorhydrie normale et pas d'achylie:

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
	—	—	—	—	—
Volume ml	10	70	7,2	1	12
H Cl libre g/l	0	1,64	4,74	0	0
Ac. potentielle g/l	0,66	0,91	1,90	+	1,64
Ac. totale g/l	0,66	2,55	6,64	+	1,64

La radiographie de l'estomac montre une image normale.

Enfin, il n'y avait pas d'hémopathie pouvant faire penser à une anémie de type achrestique.

Un premier traitement à la vitamine B12 montre une guérison momentanée et un myélogramme normal. Mais l'anémie rechute. Nos recherches ont permis de trouver dans ce cas un suc gastrique contenant du facteur intrinsèque, mais 20 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

S'agit-il d'un cas fruste d'anémie de Biermer? Nous ne voulons pas épiloguer sur ce cas, mais croyons qu'il méritait d'être rapporté.

Le second cas est un cas classique d'anémie mégaloblastique survenue au cours de la grossesse chez Mme VAL... Georgette, traitée efficacement par la vitamine B12 et la foldine, n'ayant pas reparu après l'accouchement. Cependant dans ce cas, également, la technique « in vitro » permet de mettre en évidence

un suc gastrique qui, bien que contenant du facteur intrinsèque, est 10 fois moins actif qu'un suc gastrique normal. On est en droit de se demander alors si, lorsque l'organisme de la mère en gestation doit faire face à des demandes accrues en vitamine B12, la sécrétion de facteur intrinsèque, qui suffirait dans des conditions normales, ne devient pas alors insuffisante et inapte à permettre l'absorption de vitamine B12 en quantité suffisante. Il est un fait que ces femmes ont en général une alimentation normale et que toutes les gestantes ne font pas d'anémie mégaloblastique.

Le troisième cas est encore plus curieux. Il s'agit de M. HEN... Henri, 50 ans, qui présente une anémie ayant le type d'une anémie normochrome. Le malade présente de l'asthénie, un amaigrissement et un syndrome douloureux gastrique évoluant depuis 5 ans; diarrhée chronique depuis 1914.

A l'entrée: symptomatologie gastrique évoquant une gastrite; diarrhée, hypertrophie du foie.

Pas de signes nerveux, pas de glossite.

Anémie normochrome: G.R. = 2 700 000; V.G. = 0,98;

G.B. = 6 800; Fe sérique = 150 γ .

Pas de mégalo blastes.

Achlorhydrie histamino-résistante.

Radio d'estomac: image de gastrite atrophique.

Test de Schilling: 20 %, donc normal.

Cependant la mesure de l'activité facteur intrinsèque du suc gastrique montre une disparition quasi totale de cette activité: 2 ml de suc gastrique pur et dialysé donnent une fixation de 35 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

Ainsi donc, il y a présence de facteur intrinsèque pouvant permettre une absorption intestinale limitée (20 %), mais la baisse de ce facteur intrinsèque est quasi complète. S'agit-il d'un biermérien fruste? Le tableau clinique, par ailleurs, sauf en ce qui concerne l'achlorhydrie, ne permet pas de conclure dans ce sens. Ce ne peut être une anémie sidéroprive puisque le fer sérique est assez élevé. Mais il pourrait s'agir d'une gastrite atrophique globale portant à la fois sur tous les éléments sécréteurs.

Avant de passer au chapitre suivant où seront traitées les gastrites atrophiques, nous allons, dans un tableau, don-

Tableau récapitulatif des résultats obtenus

Noms	cpm/100 mg Fixation	Activité par rapport au suc normal	Noms	Fixation cpm/100 mg	Activité par rapport au suc normal
—	—	—	—	—	—
A. K...	s.g.pur 2	0	MARC...	s.g.pur 17	0
BAR...	» 5	0	PELL...	» 13	0
BONT...	» 20	0	PEN...	» 11	0
BON...	» 15	0	PER...	» 5	0
CAR...	» 25	0	PIL...	» 1	0
CHI...	» 8	0	• F...	» 28	0
CON...	» 2	0	RON...	» 30	très faible
DOL...	» 0	0	SERV...	» 4	0
FORT...	» 14	0	THIR...	» 13	0
L. B...	» 19	0	VOU...	» 2	0
LOUL...	» 9	0	REIT...	» 105	20 fois — actif
MALB...	» 30	très faible	VAL...	dilué 1/4 77	10 fois — actif
MAR...	» 1	0	HEN...	s.g.pur 35	très faible
	Fixation basse			28	0

ner les résultats obtenus au laboratoire de chimie biologique chez les sujets qui viennent d'être passés en revue.

La gastrite atrophique et l'achlorhydrie

RÉSULTATS TROUVÉS

JUSQU'À PRÉSENT

Tous les biermériens examinés dans ce travail, et c'est là une notion classique, présentent à un stade plus ou moins avancé, une atrophie de la muqueuse gastrique, et une achlorhydrie histamino-résistante; moins constante est l'achylie, mais elle existe pourtant chez la plupart des sujets. Il est évident que chez ces malades l'atrophie gastrique s'accompagne d'une absence de sécrétion du facteur intrinsèque qui est cause de l'anémie. F. BESANÇON, en 1955 (63) en comparant des biopsies pratiquées chez 50 biermériens et 19 gastrites atrophiques ordinaires (c'est-à-dire sans mégaloblastoses et signes autres d'anémie de Biermer) montre que l'atrophie gastrique du biermérien n'a d'original que son extension plus grande, son hétérogénéité inférieure, son irréversibilité, c'est-à-dire qu'à part quelques différences minimes, lui-même conclut que la biopsie ne peut être un élément de diagnostic différentiel.

Les deux affections étant donc aussi voisines l'une de l'autre, sur ce plan, les auteurs se sont posé la question de savoir, pourquoi les sujets atteints de gastrite atrophique ordinaire ne présentaient pas de signes d'anémie pernicieuse. Il fallait admettre que les cellules sécrétant le facteur intrinsèque fussent encore actives. C'est ce que différents travaux ont montré.

GLASS (52), utilisant sa technique chez 12 sujets atteints de gastrite atrophique et ayant une achlorhydrie histamino-résistante, montre que la fixation hépatique de vitamine B₁₂ Co⁶⁰ de ces sujets est normale ou à peine abaissée, sauf dans un cas où elle est nulle.

SIURALA et NYBERG (64) ont également étudié l'absorption de la vitamine B₁₂ chez des sujets atteints de gastrite

atrophique, en utilisant le test de Schilling. Ils classent leurs malades suivant l'état plus ou moins avancé de leurs gastrites qu'ils apprécient par la biopsie. C'est ainsi que chez 13 sujets normaux et 4 sujets ayant une gastrite superficielle, le test de Schilling donne des résultats normaux. 30 cas de gastrite atrophique un peu plus prononcée donnent des résultats normaux, sauf deux cas, où les résultats sont un peu bas; cependant, dans ces derniers cas, la stimulation de la sécrétion gastrique par le « Carbachol » qui est le chlorhydrate de carbamylcholine, amène les résultats à la normale. Enfin, parmi 6 cas de gastrite atrophique totale qui présentent une image histologique très semblable à celle de l'anémie pernicieuse, on trouve un résultat normal, les autres sont bas quoique plus élevés que le résultat d'anémie pernicieuse, un cas est nul. Dans ces cas, où le résultat est faible ou nul, l'adjonction de facteur intrinsèque le remonte à la normale; plusieurs de ces sujets, s'ils ne font pas d'anémie de Biermer, présentent une anémie ferriprive.

L'auteur conclut donc que l'atrophie gastrique peut devenir assez intense pour produire une baisse considérable de la sécrétion du facteur intrinsèque; mais jusqu'à ce stade très avancé, le facteur intrinsèque est sécrété en quantité suffisante pour empêcher l'anémie de se manifester.

SIEVERS et GALLAGHER (65), en étudiant la sécrétion stomacale d'acide, de pepsine et de facteur intrinsèque notent que ces trois fonctions ont tendance à disparaître au cours d'atteintes de l'estomac dans un certain ordre: l'achlorhydrie apparaît d'abord, puis la production de pepsine et enfin celle de facteur intrinsèque disparaissent.

Sans pousser aussi loin nos recherches, nous avons, avec M. le Professeur WOLFF, MM. RAUBER et ROYER, appliqué la méthode décrite dans ce travail à l'étude du facteur intrinsèque chez des sujets présentant, soit une achlorhydrie histamino-résistante, soit une gastrite atrophique mise en évidence par biopsie (76).

RECHERCHES EFFECTUÉES

Observations. 7 sujets ayant une achlorhydrie histamino-résistante ont été étudiés. Pour la plupart, ces sujets étaient des alcooliques en cure de désintoxication; voici les observations de ces malades.

ALV... José-Maria, né le 23 février 1900, sujet Portugais, manoeuvre, admis au service pour « éthylisme très avancé »; sujet ayant déjà été traité en 1956 pour cirrhose du foie et délirium. Involunt psychique, subconfusion, dysmésie, onirisme, énormes tremblements. État général précaire: subictère, gastralgies, anorexie.

Le malade a subi une cure de désintoxication avec polyvitamino-thérapie.

Bilan biologique: B.W. et Nelson = négatifs, urée = 0,29, cholestérol = 2,25 g, glycémie = 0,97, tests hépatiques positifs.

Tubage gastrique:

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	19	20,5	10	10,5	5
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. totale g/l	0,20	0,45	0,20	0,20	0,10

Présence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique, mais 12 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

CON... Orméo, sujet Italien né le 24 août 1912, admis au service en cure libre de désintoxication; syndrome classique d'intolérance à l'alcool avec accès confuso-oniriques, zoopsies, tremblements, amyotrophie des mollets, hépato-mégalie.

Bilan biologique: Urée = 0,37 g; cholestérol = 2,28 g; Glycémie = 1,11; B.W. Nelson = négatifs; G.R. = 4 780 000; Hb. = 99 %; V.G. = 1,03; formule blanche normale.

Tubage gastrique:

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	32	15	14	14,5	21,5
H Cl libre g/l	0	0	0,25	0,40	0,35
Ac. totale g/l	0,65	0,30	0,75	0,80	0,65

Gastrite hypotonique à la radiologie; retard d'évacuation.

Suc gastrique subnormal: 1,4 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

DUV... André, né le 2 novembre 1900, admis au service pour « délirium ». A l'entrée, état confuso-onirique, que le traitement améliore rapidement, mais fond mental pauvre. Etat général mauvais, avec varicosités des pommettes, conjonctives oculaires injectées et subictériques, hépatomégalie, souffle cardiaque protosystolique; râles pulmonaires des deux champs.

Démarche ébrieuse avec steppage, hyperréflexie tendineuse avec ébauche de signe de Babinski à gauche, tremblement lingual et digital.

Bilan biologique: Urée = 0,43 g; cholestérol = 2,10; glycémie = 0,84.

Tubage gastrique:

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	13	45	29,5	16,5	16,5
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. totale g/l	0,40	0,70	0,40	0,10	0,10

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 5,3 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

MESC... Nello, Italien, né le 13 janvier 1908, mineur de fer, admis pour délirium tremens sévère, évoluant en récédive sur une cirrhose; délire, agité avec phases comateuses; troubles hépato-digestifs; fracture du crâne en 1932; silicose pulmonaire.

Le traitement par vitaminothérapie intensive améliore beaucoup le malade (B1, B6, B12).

Bilan biologique: Urée = 0,29; cholestérol = 1,98; G.R. = 4 530 000; Hb. = 94 %; V.G. = 1,03; formule blanche normale.

Radiologie: estomac hypoténique, retard d'évacuation.

Tubage gastrique:

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	9	8	6	6	8
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. totale g/l	0,55	0,15	0,45	0,15	0,15

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 4 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

NOE... Lucien, né le 19 février 1902, admis au service pour crise d'agitation. Ancien traumatisé crânien alcoolique; à l'entrée, état général précaire: cypho-scoliose avec emphysème et bronchite chronique; hyperthermie, délire nocturne, amyotrophie, crampes, tremblements.

Le traitement par tifomycine, vitaminothérapie intense (B1, B12, B6) fait régresser l'agitation et le délire.

Bilan biologique: urée = 0,30; cholestérol = 0,94; tests hépatiques négatifs.

Tubage gastrique:

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	38	20	12,5	7	6
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. totale g/l	0,40	0,40	0,20	0,10	0,10

Radiologie: estomac normal.

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 1,8 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

SCHL... Armand, 59 ans, manoeuvre, admis au service pour éthylisme chronique; syndrome de pseudo-paralysie générale avec obnubilation; tremblements des doigts et de la langue; amyotrophie, crampes, œdèmes des membres inférieurs; le traitement par polyvitaminothérapie améliore le malade.

Bilan biologique: urée = 0,31 g; cholestérol = 1,87; glycémie = 0,69; G.R. = 4 380 000; polynucléose neutrophile.

Radiographie: estomac distendu.

Tubage gastrique:

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	7	18	25	7,5	6,5
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. totale g/l	—	0,50	0,45	0,15	0,15

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 6 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

VIAR... Germain, 65 ans. Admis au service pour désintoxication; alcoolique invétéré; état général médiocre à l'entrée, avec tremblements digitaux et péri-buccaux, dysarthrie, hyporéflexie tendineuse, dyspnée, hypertension artérielle, hépatomégalie.

Lente amélioration par la vitaminothérapie intensive; B1, B6, B12.

Bilan biologique: Urée = 0,26; glycémie = 1,05.

Radiologie de l'estomac: aspect de gastrite.

Tubage gastrique:

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	30	14	11	18	3
H Cl libre g/l	0	0,30	0,50	0	1,80
Ac. totale g/l	0,30	0,50	0,80	0,60	1,80

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 17 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

Les quatre autres sujets que nous avons étudiés avaient une gastrite atrophique diagnostiquée par gastroscopie et biopsie gastrique. Il s'agit de:

BUC... Grégoire, 64 ans.

Ethylique ayant fait plusieurs séjours en clinique médicale; fume également beaucoup.

Dyspnée d'effort et insuffisance hépatique; bronchite chronique; foie atrophique, réflexes tendineux vifs.

En 1957: subit une laparotomie exploratrice pour image gastrique suspecte, une biopsie extemporanée ramène quelques cellules de type néoplasique, on renonce à une opération devant l'étendue des lésions.

Une biopsie plus large montre des signes de gastrite sans néoplasie.

On conclut alors à une gastrite éthylique à surveiller.

A la radiologie: rigidité de l'antré, et de toute la petite courbure pouvant évoquer une néoplasie.

La gastroscopie ne révèle pas d'image évocatrice d'une telle néoplasie.

Le malade revient en 1961. L'état général est bon; on retrouve à la radio la rigidité segmentaire de la petite courbure.

Bilan biologique: G.R. = 5 100 000; Hb. = 104 %; V.G. = 1,01; G.B. = 6 800.

Tubage gastrique: révèle une hypochylie et une achlorhydrie histamino-résistante:

	Stase	Après histamine		
		1/4 h	1/2 h	1 h
Volume ml	10	0	4	1
H Cl libre g/l	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,62	0	+	+
Ac. totale g/l	0,62	0	+	+

Il s'agit donc d'une gastrite atrophique éthylique, avec achlorhydrie et achylie.

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 14 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

MELL... André, 51 ans.

En 1956: le sujet présente un syndrome douloureux épigastrique à type de gastrite; le malade est un éthylique.

Son état général est médiocre: asthénie, gros foie, douloureux, mauvaise digestion et anorexie aux graisses.

En 1958: légère amélioration, mais le syndrome gastrique persiste.

En 1960: même symptomatologie, malgré un traitement anti-ulcéreux, recrudescence même des douleurs, le malade maigrit et vomit.

Le tubage gastrique montre une achlorhydrie.

Il existe une légère anémie à 4 280 000 G.R.

La radiographie d'estomac révèle un manque de souplesse de la région antrale.

En 1961: bilan biologique: G.R. = 4 600 000; Hb. = 91 %; V.G. = 0,98; G.B. = 6 800.

Tubage gastrique:

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	10	21	18	9,5	15
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,73	0,47	0,62	1,24	0,69
Ac. totale g/l	0,73	0,47	0,62	1,24	0,29

La radiographie laisse envisager la présence d'une néoformation de la petite courbure dans la région prépylorique.

La gastroscopie est en faveur d'une gastrite atrophique, diffuse, la région antrale paraît plus atone que rigide; l'éventualité d'une linite au début ne peut cependant être formellement écartée.

Biopsie gastrique: Gastrite subchronique, non spécifique, à tendance atrophique assez nette.

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 2,5 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

NAD... Louis, 71 ans.

En 1960: apparition d'une anorexie élective aux graisses, accompagnée d'amaigrissement; teint subictérique et foie atrophique.

La radiographie d'estomac montre un estomac atone, surtout dans la région antrale et le bulbe.

En 1961: baisse de l'état général, amaigrissement à nouveau et anorexie. Epanchement pleural séro-fibrineux.

Bilan biologique: V.S. = accélérée; Anémie à 3 600 000 G.R.; Hb. = 70 %; V.G. = 0,96; G.B. = 6 600.

La gastroscopie est en faveur d'une gastrite atrophique plutôt que d'une linite plastique.

La biopsie gastrique montre une gastrite interstitielle subaiguë nette à tendance atrophique, mais le prélèvement a été superficiel et on ne peut affirmer cette atrophie.

L'activité en facteur intrinsèque est nulle puisque 2 cc du suc gastrique pur et dialysé permettent une fixation de 13 c/p/m seulement.

TREQ... Louis, 50 ans.

Le 15 janvier 1961, le sujet présente une hématomèse importante de sang rouge suivie de sueurs froides et de frissons. Sujet éthylique.

Biologie: présence de sang dans les selles.

Anémie à 3 250 000 G.R.; Hb. = 62 %; V.G. = 0,95; G.B. = 5 700. La radiographie montre un bulbe irrégulier mais pas d'ulcère.

A la gastroscopie: allure de gastrite congestive à tendance hypertrophique.

La biopsie du foie révèle une stéatose.

Tubage gastrique: hypochlorhydrie:

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	14	15	14	7,5	8,5
H Cl libre g/l	0	0,36	0,66	0	0,36
Ac. potentielle g/l	0,55	0,92	1,46	1,09	1,10
Ac. totale g/l	0,55	1,28	2,12	1,09	1,46

La biopsie gastrique révèle une gastrite subaiguë, assez intense à nette tendance atrophique, avec régression des éléments épithéliaux.

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 2,8 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

Conclusions. Reportons sur un tableau les résultats obtenus chez tous les sujets examinés.

Noms	Activité/suc normal	Noms	Activité/suc normal
ALV...	12 fois moins actif	VIAR...	17 fois moins actif
CON...	1,4 » »	BUC...	14 » »
DUV...	5,3 » »	MELL...	2,5 » »
MESC...	4 » »	NAD...	0
NOE...	1,8 » »	TREQ...	2,8 » »
SCHI...	6 » »		

Activité en facteur intrinsèque des sucs gastriques de 11 sujets atteints d'achlorhydrie et de gastrite atrophique.

En conclusion, nous retrouvons des résultats comparables à ceux des auteurs cités précédemment.

En général, les sucs gastriques ont une activité en facteur intrinsèque abaissée vis-à-vis de la normale, mais à des degrés différents.

Dans un cas, cette activité est nulle, le sujet présente une anémie qui n'est pas expliquée par un saignement, mais cette anémie n'est ni hyperchrome, ni macrocytaire.

L'anémie hypochrome achlorhydrique

Bien que cette affection soit une entité nettement différenciée de l'anémie de Biermer, il faut noter qu'on retrouve dans son tableau clinique deux éléments contenus dans celui de l'anémie pernicieuse, il s'agit de l'achlorhydrie et de l'anémie. Il était alors intéressant de rechercher chez de tels sujets quelle était la sécrétion du facteur intrinsèque.

RAPPEL CLINIQUE ET PHYSIOPATHOLOGIQUE DE L'ANÉMIE HYPOCHROME FERRIPRIVE ACHLORHYDRIQUE

L'anémie n'est jamais extrêmement prononcée et n'atteint pas les taux très bas de l'anémie pernicieuse, par contre le malade accuse plus fortement les symptômes de l'anémie tels que pâleur, fatigabilité, asthénie.

Il existe des perturbations trophiques épithéliales avec anomalie des ongles et surtout une glossite et une dysphagie.

Il existe évidemment un diamètre globulaire moyen diminué, mais l'indice de sphéricité ne change pas.

La moelle osseuse révèle une réaction érythroblastique et enfin surtout le fer plasmatique est fortement diminué, de même que le fer de réserve.

Il existe enfin une achlorhydrie histamino-résistante en relation avec une atrophie gastrique (66).

La pathogénie actuellement la plus admise est que le défaut d'acide chlorhydrique libre ne permet pas l'ionisation du fer alimentaire et son passage de Fe^{+++} en Fe^{++} , c'est-à-dire de fer ferrique en fer ferreux qui est assimilable par l'homme.

Il faut toutefois mentionner que l'accord n'est pas complètement réalisé au sujet du rôle de l'estomac dans la transformation du fer alimentaire en fer divalent assimilable. Certains auteurs, en effet, invoquent la brièveté du séjour des aliments dans l'estomac, leur passage rapide dans le duodenum où s'effectue la neutralisation...

BRUMMER (67) compare chez 100 femmes, dont 34 sont achlorhydriques, taux d'hémoglobine et fer sérique et ne trouve aucune différence significative. Il en conclut que le rôle de l'acide chlorhydrique gastrique dans l'assimilation du fer a été fortement exagéré.

Notons que l'intestin intervient dans l'absorption du fer, puisque REIMANN et FRITSCH ont obtenu la crise réticulo-cytaire et la guérison d'une anémie hypochrome par du fer métallique administré sous forme de capsules glutenisées.

Enfin, certains auteurs poussent leur conclusion plus loin, c'est ainsi que DAVIDSON et MARKSON (68) pensent que l'achlorhydrie et l'atrophie gastrique sont secondaires à la carence en Fer en non primaire.

Nous rejoignons ici les discussions portant non plus sur l'anémie ferriprive, mais sur l'anémie de Biermer.

Avant de conclure, nous voudrions donner les résultats obtenus dans 5 cas d'anémie ferriprive achlorhydrique que nous avons étudiés en collaboration avec M. le Professeur WOLFF (77).

RECHERCHES EFFECTUÉES

OBSERVATIONS

BAC... Joseph.

Sujet artérioscléreux et myocardique avec arythmie complète. A fait un ictus le 7 avril 1960.

A l'entrée le sujet avait une anémie à 2 500 000 G.R.; Hb. = 70 %; V.G. = 0,97; le fer sérique est à 70 γ ; anisocytose.

Le tubage gastrique: achylie et achlorhydrie histamino-résistante:

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	2	4	1	1	1
H Cl libre g/l	+	+	0	0	0
Ac. potentielle g/l	+	+	0	0	0
Ac. totale g/l	+	+	0	0	0

Le myélogramme est normal.

La mesure de l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique révèle un suc gastrique 5 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

BARB... Ernest, 72 ans.

Ancien traumatisé de la colonne vertébrale, mais sans séquelles nerveuses; ancien hypertendu.

Il y a un mois: asthénie, anorexie, pâleur, pas d'amaigrissement. Impossibilité de marcher.

A l'entrée, le sujet présente une anémie à 3 300 000 G.R.; Hb. = 60 %; V.G. = 0,90; Fe sérique = 25 γ .

La formule blanche est normale.

Le myélogramme révèle une réaction érythroblastique sans formes anormales. Le tubage gastrique montre une achlorhydrie histamino-résistante.

	Après histamine				
	Stase	1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
	—	—	—	—	—
Volume ml	20	15	2	2	1
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	1,82	1,60	+	+	+
Ac. totale g/l	1,82	1,60	+	+	+

Activité en facteur intrinsèque nulle, puisque 2 cc de suc gastrique pur et dialysé permettent une fixation de 22 c/p/m pour 100 mg de tissu frais.

SOL... Marcel, 76 ans.

Ancien colonial, eczémateux, sujet obèse.

Depuis 5 ou 6 ans présente des bronchites avec crises dyspnéiques.

Depuis 1 mois: asthénie, anorexie, pas d'amaigrissement, pas de maeléna, pas de troubles digestifs, pas d'hépto- ou splénomégalie...

E.C.G. = ancien infarctus.

Bilan biologique: protides sanguins = 70 g; Fe sérique = 60 γ .

Le 1^{er} juillet 1961: G.R. = 2 100 000; anisocytose, anisochromie, poikilocytose, Hb. = 42 %; V.G. = 1; G.B. = normaux.

Tubage gastrique: achlorhydrie et achylie histamino-résistante.

	Stase	Après histamine			
		1/4 h	1/2 h	1 h	1 h 1/2
Volume ml	8	2	1	2	6
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	1,60	+	+	+	1,17
Ac. totale g/l	1,60	+	+	+	1,17

Après des transfusions le nombre des globules rouges remonte à 3 400 000. Test de Schilling = 24,5 %.

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 4,1 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

TRIB... Yvonne, 39 ans.

Episodes de coliques hépatiques; ictère en 1948; dyspnée d'effort; palpitations cardiaques; asthénies.

Au point de vue digestif: transit normal.

Pas de notion de spoliation sanguine.

Pas d'hépto ou spléno-mégalie.

Bilan biologique: G.R. = 2 150 000; Hb. = 35 %; V.G. = 0,81; Fe sérique à 35 γ ; G.B. = normaux.

Pas de signe d'hémolyse.

Myélogramme normal.

Le tubage gastrique révèle une anachlorhydrie histamino-résistante:

	Stase	Après histamine			
		1/4 H	1/2 H	1 H	1 H 1/2
Volume ml	6	33	20	17	7
H Cl libre g/l	0	0	0	0	0
Ac. potentielle g/l	0,73	1,46	1,06	1,06	0,58
Ac. totale g/l	0,73	1,46	1,06	1,06	0,58

Activité en facteur intrinsèque: suc gastrique 2 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

WIDE... Michèle, 18 ans.

Aucun antécédent particulier si ce n'est une appendicectomie à 16 ans. Régée irrégulièrement, céphalées frontales.

Depuis 8 jours : asthénie, pâleur, pas de subictère.

Quelquefois selles noires et nauséabondes.

Bilan biologique : pas de sang dans les selles ; G.R. = 2 650 000 ; Hb. = 50 % ; V.G. = 0,94 ; G.B. normaux.

Fe sérique à 35 γ .

Pas de signe d'hémolyse.

V.S. accélérée un peu.

Myélogramme montrant une réaction érythroblastique, mais sans formes anormales.

Activité en facteur intrinsèque : suc gastrique 2,4 fois moins actif qu'un suc gastrique normal.

Conclusions. — Reportons sur un tableau les résultats obtenus chez 5 sujets :

Noms —	Activité du suc gastrique par rapport à un suc normal —
BAC...	5 fois moins actif
BARB...	Nulle
SOL...	4,1 fois moins actif
TRIB...	2 fois moins actif
WIDE...	2,4 fois moins actif

Activité en facteur intrinsèque
de 5 sucs gastriques
de sujets atteints d'anémie ferriprive.

Il semble donc bien, qu'à côté de l'achlorhydrie, une certaine atrophie de cellules sécrétant le facteur intrinsèque existe dans l'anémie ferriprive, type HAYEM-FABER. On peut penser que cette atrophie touche toute la muqueuse gastrique, mais avec une atteinte élective des cellules, sécrétant l'acide chlorhydrique.

ESSAI D'INTERPRÉTATION

Cette constatation de la baisse du facteur intrinsèque dans l'anémie microcytaire est-elle fortuite ou existe-t-il une relation entre cette maladie et l'anémie de Biermer.

GRASBECK (69) rapporte le cas d'un sujet de 22 ans atteint d'anémie de Biermer et dont la sœur avait présenté une anémie hypochrome ferriprive guérie par la thérapeutique martiale.

On sait d'autre part, que l'achlorhydrie et la gastrite atrophique existent à un plus fort pourcentage chez les parents de sujets atteints d'anémie de Biermer (70).

BADENOCH et collaborateurs (78) ont étudié chez 50 patients atteints d'anémie hypochrome, la sécrétion d'acide chlorhydrique, de pepsine et de facteur intrinsèque par le biais de la mesure du bilan fécal. Il y a corrélation entre l'atteinte de la muqueuse intestinale et la baisse de la sécrétion gastrique. Chez les sujets présentant un stade avancé de gastrite atrophique, le facteur intrinsèque était abaissé.

Pour conclure, nous voudrions rappeler les travaux de CHEVALLIER et MOUTIER (79-80) à la suite desquels les auteurs concluent à la présence d'un ou plusieurs facteurs essentiels, agissant simultanément sur le sang, la muqueuse, le système nerveux, etc... mais plus fortement sur tel élément que sur l'autre, donnant ainsi un syndrome plutôt qu'un autre. Ce ou ces facteurs seraient-ils des tendances héréditaires dues à des gènes voisins? Le problème est resté posé.

DISCUSSION

Arrivé au terme de ce travail, nous voudrions brièvement en reprendre et en discuter les éléments essentiels.

Le point de départ en est l'étude du facteur intrinsèque gastrique comme moyen de diagnostic de l'anémie pernicieuse. Le diagnostic de celle-ci peut, en effet, présenter des difficultés liées à l'absence d'un ou plusieurs symptômes considérés comme caractéristiques: mégaloblastose, achylie et achlorhydrie, atrophie gastrique, atteintes des épithéliums, atteintes nerveuses, difficultés liées à l'interprétation délicate de la cytologie médullaire: mégaloblastes typiques ou atypiques, étiquetés pseudo-mégaloblastes, nombre très faible de ces mégaloblastes allant jusqu'à leur absence totale.

Des méthodes pour un diagnostic de certitude ont été proposées, qui reposent toutes sur la propriété reconnue au facteur intrinsèque de rendre possible l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂, suivie de son passage dans le milieu intérieur, dans le foie et, avec certains artifices, de son élimination partielle dans les urines.

La découverte et la mise à la disposition des cliniciens de la vitamine B₁₂ marquée a permis d'envisager toute une série de méthodes par lesquelles il devient possible d'observer chez le malade si la vitamine B₁₂ est absorbée à un taux normal ou non, et de conclure à la présence ou l'absence de facteur intrinsèque dans le suc gastrique.

L'obligation de l'absorption orale d'un produit radioactif dans toutes les méthodes recommandées à ce jour constitue le plus gros obstacle à la généralisation de leur emploi. D'autre part, les recherches récentes ayant montré

la pluralité des causes de la malabsorption intestinale de la vitamine B₁₂, les méthodes mentionnées ci-dessus ne permettent pas non plus de discerner entre ces divers facteurs.

La méthode employée dans ce travail permet d'éviter ces obstacles et ces difficultés. Elle fait usage d'un segment intestinal de cobaye, et tout en supprimant l'obligation d'une absorption per os d'un produit radioactif par le patient, fournit directement une idée de l'activité en facteur intrinsèque du suc gastrique.

Son écueil est la lenteur de son exécution; d'autre part, on a pu lui reprocher son caractère de méthode expérimentale dont le substrat est un tissu animal et non pas le tissu humain lui-même, dont on veut étudier les propriétés. Cette objection s'adresse à tous les tests pharmacologiques, mais les résultats obtenus dans l'anémie de Biermer, la concordance de ces résultats avec ceux du test de Schilling pratiqué chez les mêmes sujets peut lever toutes hésitations et donne toute sa valeur pratique à cette méthode.

En raison de sa facilité d'exécution, elle ouvre à l'investigation du laboratoire de vastes domaines de la clinique humaine et permet d'envisager une Physio-Pathologie du facteur intrinsèque.

La méthode décrite dans ce travail présente un autre avantage: en raison de la quantité de suc gastrique ou d'extrait de muqueuse gastrique nécessaire pour cette recherche, elle se prête à une étude expérimentale du facteur intrinsèque des animaux de petite taille, tels que le rat et la souris.

Dans ce travail sont d'autre part rapportés les premiers éléments d'une étude physiologique et pathologique du facteur intrinsèque obtenus par l'emploi de cette méthode.

Les variations physiologiques du facteur intrinsèque gastrique ont été étudiées chez l'adulte, chez l'enfant et chez le vieillard. En pathologie, nos investigations ont porté principalement sur l'anémie pernicieuse, mais également sur l'atrophie gastrique en raison des relations entre cette affection et la pathologie gastrique dans la maladie de Biermer.

Enfin, l'évolution de l'anémie hypochrome ferriprive vers l'anémie pernicieuse ayant été notée par plusieurs auteurs, il nous a semblé intéressant de rechercher également la variation du taux du facteur intrinsèque dans cette affection.

L'absence de facteur intrinsèque a été notée chez plusieurs patients en dehors de toute atteinte pernicieuse ; cette constatation doit faire rejeter l'absence de facteur intrinsèque comme signe pathognomonique de l'anémie de Biermer, mais elle garde toute sa valeur lorsqu'elle est appuyée par les signes cliniques caractéristiques de l'anémie pernicieuse.

CONCLUSIONS

Les difficultés rencontrées souvent en clinique pour établir un diagnostic de certitude d'une anémie de Biermer ont posé, depuis longtemps, le problème de la connaissance du signe pathognomonique de cette affection.

Les travaux de CASTLE sur le facteur intrinsèque ont montré que celui-ci fait, de façon constante, défaut dans cette affection.

Le rôle principal de cette hormone est de rendre possible l'absorption intestinale de la vitamine B₁₂.

La mise à la disposition des chercheurs d'une vitamine B₁₂ marquée par un atome de cobalt radioactif, a permis d'effectuer l'étude de son absorption intestinale et les méthodes de WELCH, GLASS, SCHILLING ont pour objet de déterminer, dans une épreuve d'absorption orale, la partie absorbée, par la mesure de l'élimination fécale, de la fixation hépatique ou du passage depuis le milieu intérieur dans les urines réalisé au moyen d'un artifice.

En raison de la multiplicité des causes qui ont pour effet un défaut d'absorption intestinale de la vitamine B₁₂, ces méthodes ne sauraient prétendre à indiquer le taux du facteur intrinsèque dans le suc gastrique; elles ne peuvent le faire qu'au prix d'une répétition de l'épreuve en présence de suc gastrique normal. Cette complication, à elle seule, s'oppose à une étude systématique du facteur intrinsèque en Physiopathologie. Il s'y ajoute le fait que de nombreux cliniciens se refusent à faire absorber à leurs malades, pour des besoins de diagnostic, des produits radioactifs dont on peut déceler la présence dans le foie après plusieurs années.

La méthode employée et décrite dans ce travail repose sur l'absorption, par des segments d'intestin de cobaye *in vitro*, de vitamine B₁₂ radioactive et sur l'influence du facteur intrinsèque contenu dans le suc gastrique sur cette absorption.

L'observation faite antérieurement de l'absence de spécificité d'espèce en ce qui concerne l'effet de différents « facteurs intrinsèques » sur l'intestin de cobaye et qui fait que le suc gastrique humain peut, au même titre que celui de cobaye, influencer la fixation intestinale de la vitamine B₁₂ chez cet animal, a permis l'application de cette méthode en clinique humaine.

La mesure de la fixation de la vitamine B₁₂ (au moyen d'un compteur à scintillation) a permis d'établir avec diverses dilutions d'un mélange de 10 sucs gastriques de sujets normaux une courbe d'étalonnage qui nous a servi dans les recherches ultérieures de référence. Nous exprimons l'activité en « facteur intrinsèque » d'un suc gastrique inconnu en fonction de la dilution de l'étalon qui détermine une fixation intestinale identique de vitamine B₁₂.

Chez l'enfant, la mesure de l'activité en « facteur intrinsèque » du suc gastrique a donné des résultats identiques à ceux des adultes.

Chez le vieillard, il y a dans la majorité des cas, une baisse du facteur intrinsèque allant dans deux cas, jusqu'à l'absence totale de ce facteur; cette baisse va de pair avec une certaine hypochlorhydrie et même une achlorhydrie.

Dans l'anémie pernicieuse, le facteur intrinsèque est absent du suc gastrique. Cette absence est en relation avec une achlorhydrie totale et souvent une achylie. Dans certains cas, on a pratiqué l'épreuve de Schilling, les résultats des deux épreuves se superposent.

On a reconnu que l'absence de facteur intrinsèque chez le Biermérien est souvent la conséquence d'une atrophie de la muqueuse gastrique. Une étude effectuée sur des sujets non biermériens, mais atteints d'atrophie gastrique diagnostiquée par l'absence de HCl libre, par la radio, par la gas-

troscopie et la biopsie de la muqueuse, a montré que dans la majorité des cas, le facteur intrinsèque est abaissé, voir même supprimé.

Nous avons également pu étudier cinq cas d'anémie hypochrome ferriprive. Dans cette affection, on observe également une baisse et même dans un cas l'absence du facteur intrinsèque en relation avec une certaine atteinte de la muqueuse gastrique.

Il faut conclure de l'absence de facteur intrinsèque notée dans des affections autres que l'anémie de Biermer que cette absence n'est pas pathognomonique de l'anémie pernicieuse, et que le test décrit dans ce travail ne peut être considéré à lui seul comme un élément de diagnostic de certitude d'anémie de Biermer. Mais il garde toute sa valeur en présence d'une symptomatologie clinique en faveur de cette affection.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

(le numéro des tomes est en caractères gras)

1. ADDISON (T.). — On the constitutional and local effects of the supra-renal glands. London, 1855, S. Highley.
2. BIERMER (A.). — Uber proressive perniciose Anämie. *Korresp. Schweiz Arzte*, 1872, **2**, 15.
3. NIEWEG (H.-O.), SHEN (S.-G.) and CASTLE (W.-B.). — Mecanism of Intrinsic Factor Action in the gastrectomised rat. *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.*, 1957, **94**, 223-230.
4. NABET (P.), ARNOULD (P.) et WOLFF (R.). — La gastrectomie totale chez le rat. *J. Philologie*, 1958, **50**, 91-95.
4. HOLDSWORTH (E.-S.) and COATES (M.-E.). — Binding factors in the absorption of vitamin B12 by the rat. 1st European Symposium on Vitamin B12 and Intrinsic Factor, Hamburg, 1957, Enke Verlag, Stuttgart, p. 241-243.
6. HOLDSWORTH (E.-S.) and COATS (M.-E.). — The absorption of vitamin B12 in the rat. *Biochem. J.*, 1958, **69**, 20 p.
7. WOLFF (R.). — L'absorption de la vitamine B12 radiocative par l'anse intestinale du rat *in situ*. *C. R. Acad. Sciences*, 1948, **246**, 3103-3105.
8. HERBERT (V.). — Studies of the mechanism of the effect of Hog Intrinsic Factor Concentrate on the uptake of vitamin B12 by rat liver slices. *J. Clin. Invest.*, 1958, **37**, 464.
9. HERBERT (V.). — Development of a possible *in vitro* assay for Intrinsic Factor. *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.*, 1958, **97**, 668.
10. WILSON (T.-H.) and WISEMAN (G.). — The use of sacs of everted small intestine for the study of the tranference of substances from the mucosal to the serosal surface. *J. Physiol.*, 1954, **116**, 123.
11. WOLFF (R.) et WEISS (J.). — Sur l'absorption de la vitamine B12 radioactive par l'intestin isolé de rat. 1st European Symposium on vitamin B12 and Intrinsic Factor, Hamburg, 1957, Enke, Stuttgart, p. 247.
12. LATNER (A.-L.) and RAINE (L.). — The uptake of radioactive vitamin B12 by rat intestine. 1st European Symposium of vitamin B12 intrinsic factor, Hamburg, 1957, Enke, Stuttgart, p. 243.
13. HERBERT (V.). — Mechanism of intrinsic factor action in everted sacs of rat small intestine. *J. Clin. Invest.*, 1959, **38**, 102-109.
14. STRAUSS (E.-W.) and WILSON (T.-H.). — Effect of intrinsic factor on Vitamin B12 uptake by rat intestine *in vitro*. *Prod. Soc. exptl. Biol. Med.*, 1958, **99**, 224-226.
15. GLASS (G.-B.-J.). — Biochemistry and Physiology of Castle's intrinsic factor and its relationship to the metabolism of vitamin B12. *Rev. Hémat.*, 1955, **10**, 137-179.
16. WILLIAMS (W.-L.), ELLENBOGEN (L.) and ESPOSITO (P.-G.). — Preparation of highly purified intrinsic factor. *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.*, 1954, **87**, 400-405.
17. LATNER (A.-L.), MERILLS (R.-J.) and RAINE (L.). — Preparation of highly potent intrinsic factor mucoprotein. *Bioch. J.*, 1956, **63**, 501-507.

18. HEATHCOTE (J.-C.) and MOONEY (E.-S.). — Does intrinsic factor exist? 2nd European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor, Hamburg, août 1961, à paraître Ed. Enke, Stuttgart.
19. HEINLE (R.-W.), WELCH (A.-D.), SCHARF (V.), MEACHAM (G.-C.) and PRUSOFF (W.-H.). — Studies of excretion (and absorption) of Co60 labelled vitamin B12 in pernicious anemia. *Tr. A. Am. Physicians*, 1952, **65**, 214.
20. HERBERT (V.). — The magaloblastic anemias. Modern Medical Monograph., Grune et Tratton, New-York, 1959.
21. WOKES (F.), BADENOCH (J.), and SINCLAIR (H.-M.). — Human dietary deficiency of vitamin B12. *Voeding*, 1955, **76**, 590-602.
22. NYBERG (W.), GRASBECK (R.), SAARNI (H.) and BONSDORFF (B. Von). — Am. J. Clin. Nutr. en cours, rapport du 7^e Congrès d'Hématologie de Londres, 1959.
23. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Mesure du bilan fécal de la vitamine B12 Co 60 administrée par la voie orale chez le rat gastrectomisé. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1961, **43**, 651-659.
24. WILSON (T.-H.) and STRAUSS (E.-W.). — Some species differences in the intrinsic factor stimulation of B12 uptake by small intestine *in vitro*. *Am. J. Physiol.*, 1959, **197**, 926-928.
25. WOLFF (R.). — La mesure de l'activité biologique du facteur intrinsèque contenu dans la muqueuse gastrique de porc. *C. R. Acad. Sciences*, 1960, **251**, 3142-3144.
26. BOOTH (C.-C.) and MOLLIN (D.-D.). — The site of absorption of vitamin B12 in man. *Lancet*, 1959, **1**, 18.
27. HERBERT (V.), CASTRO (Z.) and WASSERMAN (L.-R.). — Localization of the effect of intrinsic factor in the rat small intestine *in vitro*. *Clin. research.*, 1959, **7**, 33.
28. STRAUSS (E.-W.) and WILSON (T.-H.). — Factors controlling B12 uptake by intestinal sacs *in vitro*. *Am. J. Physiol.*, 1960, **198**, 103-107.
29. WOLFF (R.) et NABET (P.). — La recherche du facteur intrinsèque dans le suc gastrique chez les sujets normaux et chez les sujets atteints d'anémie de Biermer. *C. R. Acad. Med.*, 1961, **145**, 150-157.
30. BARLOW (G.-H.) and FREDERICK (K.-J.). — In vitro Assay of hog intrinsic factor concentrates employing paper electrophoresis and Co 60 B12. *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.*, 1959, **101**, 400-405.
31. GLASS (G.-B.-J.), CASTRIO (Z.), UCHINO (H.), SCHWARTZ (G.) and ISHINORI (A.). — In vitro Test for Pernicious anemia. 2nd European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor. Hamburg, août 1961. A paraître Ed. Enke, Stuttgart.
32. WOLFF (R.) et NABET (P.). — L'ultrafiltration de la vitamine B12 libre et combinée. *C. R. Soc. Biol.*, séance de Nancy, février 1961, sous presse.
33. GREENSPON (E.-A.). — Te nature of the antipernicious anemia principle in stomach. IIe : intrinsic factor and peptic digestion (en préparation). In GRASBECK : *Adv. in Clin. Chem.*, 1960, **3**.
34. GLASS (G.-B.). — New Concepts of the Nature and Mechanism of Action of intrinsic factor. Second European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor. Hamburg, août 1961 (à paraître) Ed. Enke, Stuttgart.
36. ARENDS (A.), KEUNING (F.-J.), de BOER (W.-G.-R.-M.), ABELS (J.) and NIEWEG (H.-O.). — Observations on the site of production of the intrinsic factor in different species. 2nd European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor, Hamburg, août 1961 (à paraître). Ed. Enke, Stuttgart.

37. DAVIS (R.-L.) and CHOW (B.-F.). — Some applications of the rapid uptake of vitamin B12 by resting *Lactobacillus Leichmanii* organism. *Science*, 1952, **115**, 351.
38. WOLFF (R.) et DUBOST (S.). — Fixation de la vitamine B12 par *Lactobacillus Leichmanii* et application au dosage de la vitamine B12 combinée dans les extraits d'organes. *Bioch. Bioph. Acta*, 1954, **14**, 576.
39. COOPER (B.-A.) and CASTLE (W.-B.). — Sequential mechanisms in the enhanced absorption of vitamin B12 by intrinsic factor in the rat. *J. Clin. Invest.*, 1960, **39**, 199-214.
40. MILLER (O.-N.) and HUNTER (F.-M.). — Stimulation of vitamin B12 uptake in tissue slices by intrinsic factor concentrate. *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.*, 1957, **96**, 39-43.
41. TOPOREK (M.). — Studies on absorption of intrinsic factor by the isolated perfused rat liver. 2nd European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor, Hamburg, août 1961 (à paraître). Ed. Enke, Stuttgart.
42. CALLENDER (S.-T.) et LAJTHA (L.-G.). — On the nature of Castle's hemopoietic factor. *Blood*, 1951, **6**, 1234.
43. OKUDA (K.), WIDER (J.-A.) and CHOW (B.-F.). — The effect of intrinsic factor on the hepatic uptake of vitamin B12 following intravenous injection. *J. Lab. Clin. Med.*, 1959, **54**, 535-544.
44. STURGIS (C.-G.) and ISAACS (R.). — Desiccated stomach in the treatment of pernicious anemia. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1929, **93**, 747.
- 44 bis. GRASBECK (R.). — Physiology and Pathology of vitamin B12 absorption, distribution and excretion. *Advances in Clin. Chem.*, 1960, **3**. Ed. Academic Press, New-York.
45. WILSON (T.-H.) and STRAUSS (E.-W.). — Some species differences in the intrinsic factor stimulation of B12 uptake by small intestine in vitro. *Am. J. Physiol.*, 1959, **197**, 926-928.
46. SCHWARTZ (M.). — Intrinsic factor inhibiting substance in serum of orally treated patients with pernicious anemia. *Lancet*, 1958, **2**, 61-62.
47. SCHWARTZ (M.). — Present status of acquired resistance to intrinsic factor. 2nd European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor, Hamburg, août 1961 (à paraître). Ed. Enke, Stuttgart.
48. TAYLOR (K.-B.) and MORTON (J.-A.). — An antibody to Castle's Intrinsic Factor. *Lancet*, 1958, **1**, 29-30.
49. ABELS (J.), JANSZ (A.), WOLDRINA (M.-G.), BAKKER (A.), ARENDS (A.) and NIEWEG (H.-O.). — Experiments on the Nature of the intrinsic factor inhibiting substances in serum of Patients with Pernicious anemia. 2nd European Symposium of vitamin B12 and intrinsic factor, Hamburg, août 1961, (à paraître). Ed. Enke, Stuttgart.
50. LI (J.-G.), METTLER (S.-R.), HARPER (H.-A.) and Mc BRIDE (A.). — Pernicious anemia due to the presence of intrinsic factor inhibitor diagnosed in childhood, with a 25 years follow up. *Clin. Research.*, 1959, **7**, 90-91.
51. LATNER (A.-L.) and MERRILLS (R.-J.). — 1^{er} Symposium européen sur la vitamine B12 et le facteur intrinsèque. Hambourg, 1957, Enke, Stuttgart, p. 201-205.
52. GLASS (G.-B.). — Intestinal absorption and Hepatic uptake of vitamin B12 in diseases of the gastro-intestinal tract. *Gastroenterology*, 1956, **30**, 37-52.
53. GLASS (G.-B.-J.), BOY (L.-J.), COLBLEU (A.-A.) and ROSEN (S.). — Effect of intrinsic factor on intestinal absorption of B12 in aged people. *Fed. Proc.*, 1955, **14**, 57.
54. SIURALA (M.). — Gastric lesion in some magaloblastic anemias. *Acta Med. Scandinav.*, 1956, **154**, 337.
55. LEIKIN (S.-L.). — Pernicious anemia in childhood. *Pediatrics*, 1960, **25**, 91-100.

56. MOLLIN (D.-L.), BAKER (S.-J.) and DONIACH (I.). — Addisonian pernicious anemia without gastric atrophy in a young man. *Brit. J. Haematol.*, 1955, **1**, 278.
57. WELCH (A.-D.), NICHOL (C.-A.) and CLEMENT (D.-H.). — A case of juvenile pernicious anemia: study of the effects of Folic Acid and vitamin B12. 2nd European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor, Hamburg, août 1961, (à paraître). Ed. Enke, Stuttgart.
58. Mc INTYRE (P.-A.), HAHN (R.), CONLEY (C.-L.) and GLASS (B.). — Genetic factors in predisposition to pernicious anemia. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1959, **104**, 309.
59. ARBO (J.) and MOHR (J.). — Pernicious anemia in Monozygotic twins. *Act. genet. et Stat. Med.*, 1958, **8**, 105.
60. HARRIS-JONES (J.-N.), SWAN (H.-T.) and TUDHOPE (G.-R.). — Pernicious anemia without gastric atrophy and in the presence of free hydrochloric acid. Report of a case. *Blood*, 1957, **12**, 461.
61. UNGLEY (C.-C.). — Some current views on the origin of pernicious anemia and the absorption of vitamin B12. *Trans. New-York Acad. Sc.*, 1951, **14**, 25.
62. LAMY (M.) et BESANCON (F.). — L'hérédité et la maladie de Biermer. *Le Sang*, 1954, **25**, 324.
63. BESANCON (F.). — Etudes cliniques et biologiques sur l'anémie pernicieuse. Thèse, Paris, 1955. Ed. Expans. Scient. Fée.
64. SIURALA (M.) and NYBERG (W.). — Vitamin B12 absorption in atrophic gastritis. *Ac. Med. Scand.*, 1957, **157** (fasc. 6), 435-443.
65. SIEVERS (M.-L.) and GALLACHER (N.-I.). — Interrelationship of acid, pepsin, and intrinsic factor production. *Gastroenterology*, 1959, **37**, 182-187.
66. CHEVALLIER (P.) et MOUTIER (F.). — L'atrophie gastrique et les anémies. *Sem. Hôp. Paris*, 1942, **18**, 25.
67. BRUMMER (P.). — The significance of achlorhydria for the etiology of iron-deficiency anemia. *Acta Med. Scand.*, 1950, **137**, 43.
68. DAVIDSON (W.-M.-B.) and MARKSON (J.-L.). — The gastric mucosa in iron deficiency anemia. *Lancet*, 1955, **2**, 639.
69. GRASBECK (R.), GORDIN (R.), KANTERO (I.) and KUHLMACK (B.). — Selective vitamin B12 malabsorption and Proteinuria in young people. *Acta Med. Scandinavica*, 1960, **167** (fasc. 4), 289-296.
60. CAMBIER (J.). — Prédisposition génétique à l'anémie de Biermer. *Presse Médicale*, 1959, **51**, 1891.
71. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Nouvelle méthode de dosage du facteur intrinsèque dans le suc gastrique humain. *C. R. Acad. Sciences*, 1961, **252**, 2473-2474.
72. WOLFF (R.) et NABET (P.). — A new method for the biological determination of intrinsic factor activity in human gastric juice. Results obtained in normals and in pernicious anemia patients. 2nd European Symposium on vitamin B12 and intrinsic factor. Hamburg, août 1961, (à paraître). Ed. Enke, Stuttgart.
73. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Les Facteurs inhibiteurs du « Facteur Intrinsèque » (à paraître).
74. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Le Facteur Intrinsèque chez l'enfant normal (à paraître).
75. WOLFF (R.), CUNY (G.) et NABET (P.). — Le Facteur Intrinsèque chez le vieillard normal. 2^e Congrès de Gériatologie, La Haye, septembre 1961 (à paraître).
76. WOLFF (R.), RAUBER (G.), NABET (P.) et ROYER (P.). — Le facteur intrinsèque au cours des gastrites atrophiques (à paraître).
77. WOLFF (R.) et NABET (P.). — Le facteur intrinsèque au cours de l'anémie periphrivée achlorhydrique (à paraître).

78. BADENOCH (J.), EVANS (J.-R.) and RICHARDS (W.-C.-D.). — The stomach in Hypochromic Anaemia. *Brit. J. Haematol.*, 1957, **3**, 175-185.
 79. CHEVALLIER (P.) et MOUTIER (F.). — L'atrophie gastrique et les anémies. *Sem. Hôp. Paris*, 1942, **18**, 25-28.
 80. CHEVALLIER (P.), MOUTIER (F.), STEWART (W.), SEVAUX (A.) et ELY (Z.). — L'atrophie gastrique et la thérapeutique antianémique dans les affections sans anémie. Conception d'une maladie à manifestations diverses dont les anémies essentielles ne sont que des formes cliniques graves. *Bull. mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 1934, **50**, 1606.
 81. PAULSON (M.) and HARVEY T.-C.). — Hematologic alterations after total gastrectomy. Evolutionary sequence over a decade. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1954, **156**, 1556.
 82. Editorial, William Bosworth CASTLE. Curriculum Vitae and bibliography. *A.M.A. Arch. internal. Med.*, 1958, **101**, 175-183.
-

Imprimerie Georges Thomas - Nancy

Dépôt légal II-1963 - N° 613

